

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-030977

(43)Date of publication of application : 04.02.1997

(51)Int.Cl.

A61K 31/70
A61K 31/58
A61K 35/78
C07J 9/00
C07J 17/00
C07J 71/00

(21)Application number : 07-184117

(71)Applicant : NANBA TSUNEO
KADOTA SHIGETOSHI
KAKEN PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 20.07.1995

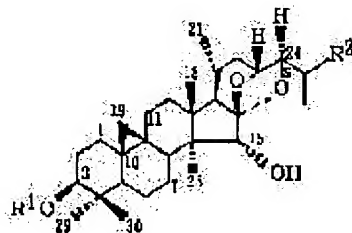
(72)Inventor : NANBA TSUNEO
KADOTA SHIGETOSHI
MIYAHARA TATSURO

(54) THERAPEUTIC AGENT FOR BONE DISEASE CONTAINING EXTRACT OF BLACK COHOSH ROOT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject therapeutic agent comprising an extract of black cohosh root as active ingredient, suppressing bone absorption by parathyroid hormone and reduction in bone density, having no adverse effect, useful for treating osteoporosis, hypercalcemia, etc.

SOLUTION: This therapeutic agent comprises an extract of black cohosh root an active ingredient. Cimicifuga foetida L. produced in SISENSYOU in China, etc., are preferable as the black cohosh root. The extract of black cohosh root is preferably obtained by extracting rhizome of black cohosh root with methanol under heating, distilling away methanol from the extracted solution and extracting the residue with ethyl acetate. The extract with ethyl acetate is further purified by column chromatography and collected to give a terpene



II.

compound of formula I (R1 is β -xylosyl; R2 is CH₂ or a group of formula II) showing strongly treating action on bone. The compound may be used as the active ingredient. A dose of the extract of black cohosh root is preferably 0.1-3 g/kg in oral administration per adult. A dose of oral administration per adult is preferably 0.01-0.3g/kg in the case of the terpene compound as the active ingredient.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 10.01.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the bone disease therapy agent which contains a Cimicifugae rhizoma extract as an active principle.

[0002]

[Description of the Prior Art] It is known that Cimicifugae rhizoma shows an antibacterial action, a circulatory system operation, a sedative action, anti-inflammatory activity, an antipyretic action, etc. for many years. In China, it is independent as an antiinflammatory drug and analgesic, or is used with other crude drugs.

[0003] The object of this invention is extracting efficiently the active principle which has a bone disease therapy operation from the rhizome of Cimicifugae rhizoma by using a suitable solvent.

[0004] Other objects of this invention are drug effect's being shown in a bone disease therapy, and obtaining a Cimicifugae rhizoma extract with few side effects, and offering a bone disease therapy agent with few side effects.

[0005]

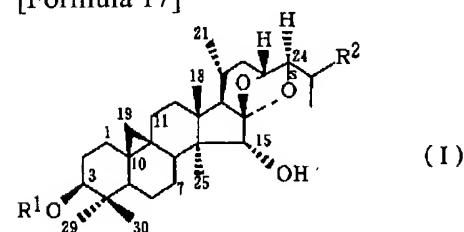
[Means for Solving the Problem] this invention persons came to complete a header and this invention for the ability of the terpene compound in which the bone disease therapy operation which was not known as drug effect of Cimicifugae rhizoma until now is shown strongly to be extracted from Cimicifugae rhizoma by performing fractionation using a suitable solvent.

[0006] This invention relates to the bone disease therapy agent which contains a Cimicifugae rhizoma extract as an active principle. That said whose Cimicifugae rhizoma extract is especially a methanol extract obtained by extracting Cimicifugae rhizoma with a methanol, That said whose Cimicifugae rhizoma extract is the hexane extractable material obtained by a methanol's extracting Cimicifugae rhizoma and extracting the residue obtained by the hexane further, The thing said whose Cimicifugae rhizoma extract is an ethyl-acetate extract obtained by a methanol's extracting Cimicifugae rhizoma and extracting the residue obtained with ethyl acetate further, and said Cimicifugae rhizoma extract What is the butanol extract obtained by a methanol's extracting Cimicifugae rhizoma and extracting the residue obtained by the butanol further is desirable. It is desirable to perform the extract by the methanol under heating.

[0007] Moreover, this invention is a formula (I).

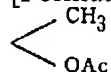
[0008]

[Formula 17]



[0009] (It corrects, R1 is a beta-xylo sill, as for R2, =CH₂; or R1 is a beta-xylo sill, and R2 is [0010].)

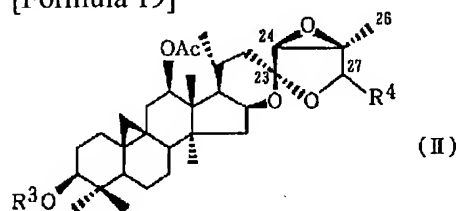
[Formula 18]



[0011] The bone disease therapy agent, formula (II) which make an active principle the terpene compound expressed with *****

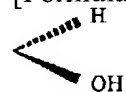
[0012]

[Formula 19]



[0013] (However R3 being an arabino sill. R4 [0014])

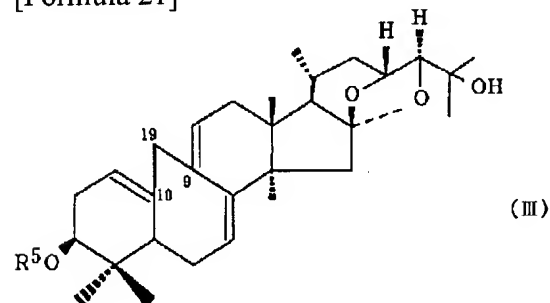
[Formula 20]



[0015] ; R3 and R4 -- both -- hydrogen -- being shown -- the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed, and a formula (III) [or]

[0016]

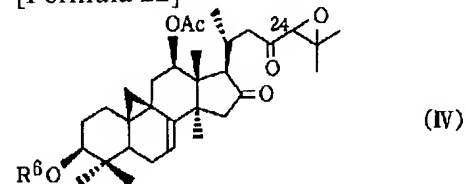
[Formula 21]



[0017] It is the bone disease therapy agent and formula (IV) which make an active principle the terpene compound expressed with (however, R5 shows a beta-xylo sill).

[0018]

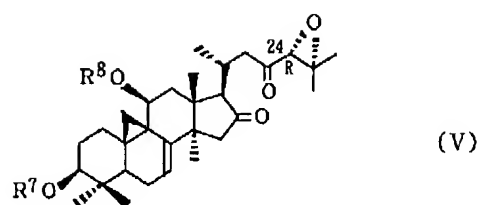
[Formula 22]



[0019] It is the bone disease therapy agent and formula (V) which make an active principle the terpene compound expressed with (however, R6 shows a beta-xylo sill).

[0020]

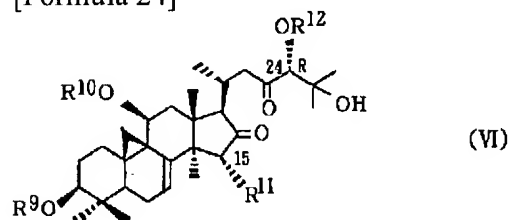
[Formula 23]



[0021] It is the bone disease therapy agent and formula (VI) which make an active principle the terpene compound expressed with (however, R7 is a beta-xylo sill and R8 shows hydrogen, as for both hydrogen, and R7 and R8).

[0022]

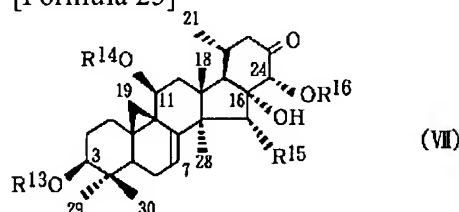
[Formula 24]



[0023] It is the bone disease therapy agent and formula (VII) which make an active principle the terpene compound expressed with (however, R9 is a beta-xylo sill, both a beta-xylo sill, and R10 and R12 are [R10, R11, and R12] hydrogen as for hydrogen; or R9, and R11 shows a hydroxyl group). [both]

[0024]

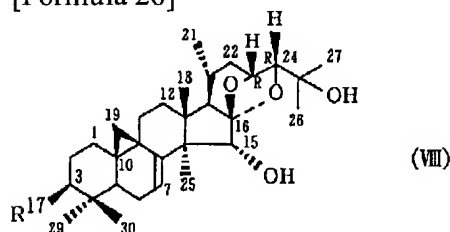
[Formula 25]



[0025] (However, as for both R13, R14, R15, and R16, hydrogen; R13 are a beta-xylo sill.) As for hydrogen; or R13, both a beta-xylo sill, and R14 and R16 are [R14, R15, and R16] hydrogen. [both] R15 -- a hydroxyl group -- being shown -- the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed -- The bone disease therapy agent which makes NORUBISUNAJIN an active principle, the bone disease therapy agent which makes Angelica archangelica in an active principle, the bone disease therapy agent which makes an iso FERU rucksack acid an active principle, the bone disease therapy agent which makes iso impeller thorin an active principle, a formula (VIII)

[0026]

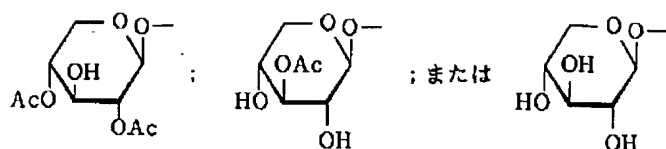
[Formula 26]



[0027] (However, R17 - OH;=O;)

[0028]

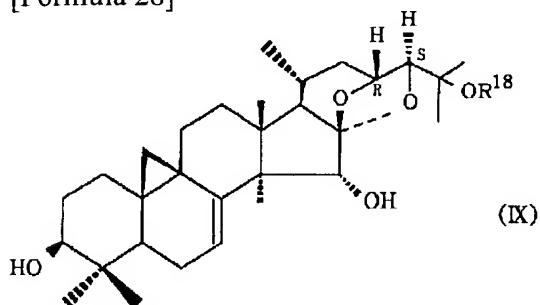
[Formula 27]



[0029] The bone disease therapy agent, formula (IX) which make an active principle the terpene compound expressed with *****

[0030]

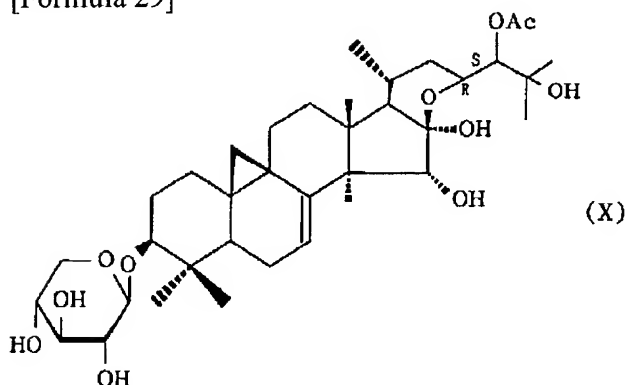
[Formula 28]



[0031] It is the bone disease therapy agent and formula (X) which make an active principle the terpene compound expressed with (however, R18 shows acetyl, as for hydrogen; or R18).

[0032]

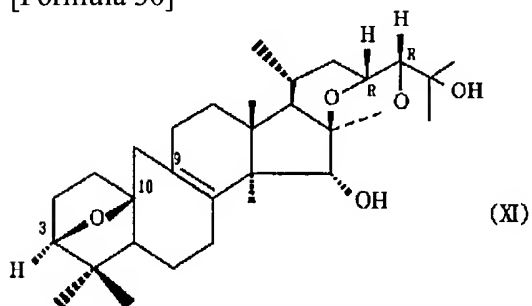
[Formula 29]



[0033] The bone disease therapy agent, formula (XI) which come out and make an active principle the terpene compound expressed

[0034]

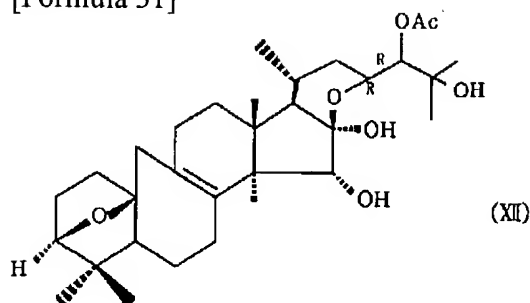
[Formula 30]



[0035] The bone disease therapy agent, formula (XII) which come out and make an active principle the terpene compound expressed

[0036]

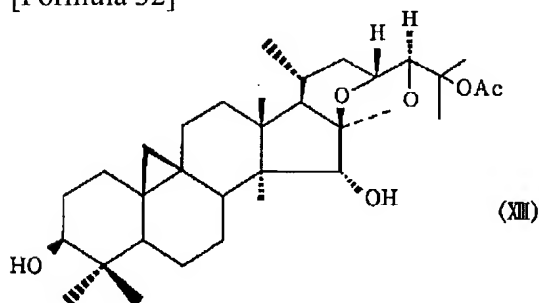
[Formula 31]



[0037] The bone disease therapy agent and formula (XIII) which come out and make an active principle the terpene compound expressed

[0038]

[Formula 32]



[0039] It is related with the bone disease therapy agent which comes out and makes an active principle the terpene compound expressed.

[0040]

[Embodiment of the Invention] As long as the Cimicifugae rhizoma used for this invention is rhizomes, such as west Cimicifugae rhizoma (it is described as Cimicifuga foetida L. and following Cimicifuga foetida L.), the Seki Cimicifugae rhizoma (it is described as Cimicifuga heracleifolia KOMAROV Cimicifuga heracleifolia KOMAROV and the following), a cimicifuga rhizome (Cimicifuga dahurica (TURCZ.) MAXIM), and SARASHINA Cimicifugae rhizoma (Cimicifuga simplex WORMSKARL), which thing is sufficient as it. Cimicifuga heracleifolia KOMAROV in Cimicifuga foetida L. especially in China and Sichuan and China, and three ministries (*****, Jilin, and Liaoning province) of northeast is desirable.

[0041] The Cimicifugae rhizoma extract used as an active principle of this invention can be manufactured as follows.

[0042] First, the rhizome of said Cimicifugae rhizoma is used as powder, the 1st solvent is added and extracted, the 2nd solvent is added to the residue which distilled the solvent out of the extract, and a fusible part is extracted.

[0043] As an example of said 1st solvent, although a methanol, ethanol, etc. are raised, for example, a methanol is desirable.

[0044] As an example of said 2nd solvent, a hexane, ethyl acetate, a butanol, etc. are raised, for example. It is ethyl acetate especially preferably.

[0045] The methanol extract used as an active principle of this invention is an extract obtained by extracting as the 1st solvent using a methanol.

[0046] The hexane extractable material, ethyl-acetate extract, or butanol extract used as an active principle of this invention is each extract obtained by using a methanol as the 1st solvent and extracting as the 2nd solvent using a hexane, ethyl acetate, or a butanol, respectively.

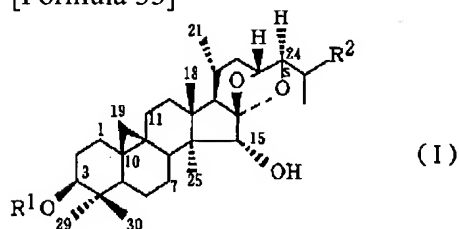
[0047] The terpene compound used as an active principle of this invention is obtained by giving said hexane extractable material, an ethyl-acetate extract, or a butanol extract to the column chromatography

for purification and an aliquot according to a conventional method.

[0048] As an example of said terpene compound, it is a formula (I), for example.

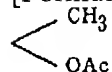
[0049]

[Formula 33]



[0050] (It corrects, R_1 is a beta-xylo sill, as for R_2 , $=CH_2$; or R_1 is a beta-xylo sill, and R_2 is [0051].)

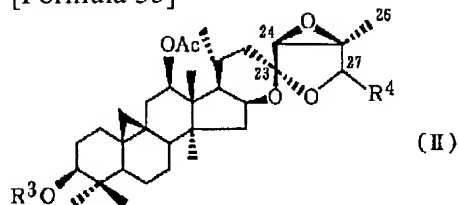
[Formula 34]



[0052] The terpene compound, formula (II) which are expressed with *****

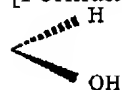
[0053]

[Formula 35]



[0054] (However R_3 being an arabino sill. R_4 [0055])

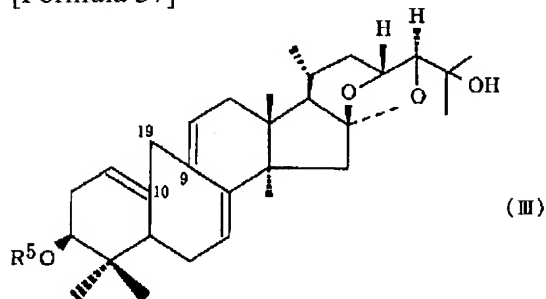
[Formula 36]



[0056] ; R_3 and R_4 -- both -- hydrogen -- being shown -- the terpene compound and formula (III) which are expressed [or]

[0057]

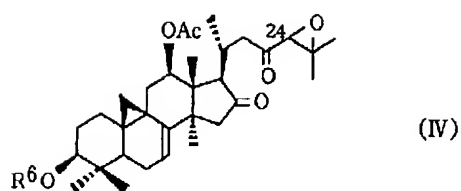
[Formula 37]



[0058] It is the terpene compound and formula (IV) which are expressed with (however, R_5 shows a beta-xylo sill).

[0059]

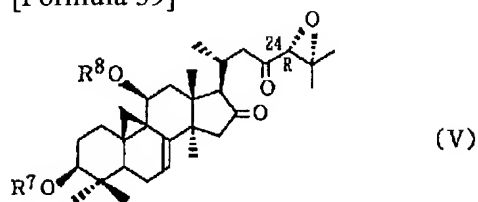
[Formula 38]



[0060] It is the terpene compound and formula (V) which are expressed with (however, R6 shows a beta-xylo sill).

[0061]

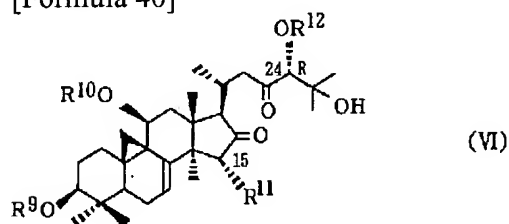
[Formula 39]



[0062] It is the terpene compound and formula (VI) which are expressed with (however, R7 is a beta-xylo sill and R8 shows hydrogen, as for both hydrogen,, and R7 and R8).

[0063]

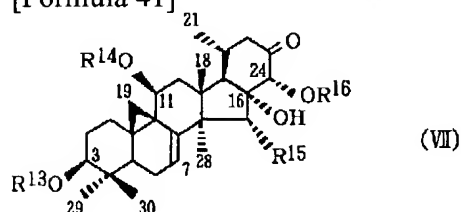
[Formula 40]



[0064] It is the terpene compound and formula (VII) which are expressed with (however, R9 is a beta-xylo sill, both a beta-xylo sill, and R10 and R12 are [R10, R11, and R12] hydrogen as for hydrogen; or R9, and R11 shows a hydroxyl group). [both]

[0065]

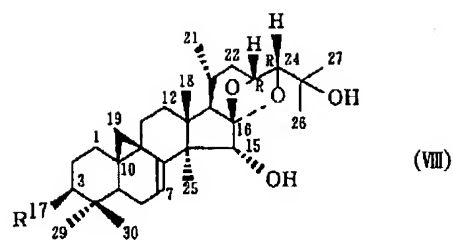
[Formula 41]



[0066] They are the terpene compound and NORUBISUNAJIN which are expressed with (however, hydrogen;R13 are a beta-xylo sill as for both R13, R14, R15, and R16, both a beta-xylo sill, and R14 and R16 are [R14, R15, and R16] hydrogen as for hydrogen; or R13, and R15 shows a hydroxyl group), Angelica archangelica in, an iso FERU rucksack acid, iso impeller thorin, and a formula (VIII). [both]

[0067]

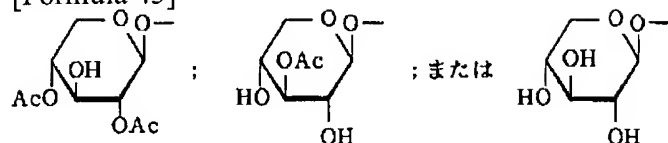
[Formula 42]



[0068] (However, R17 - OH;=O;)

[0069]

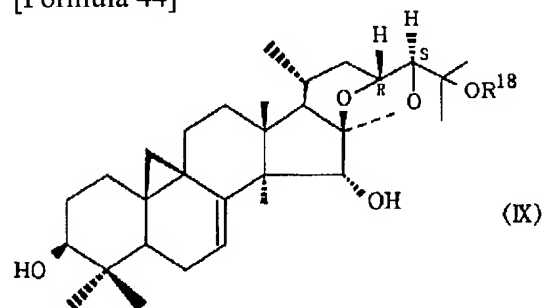
[Formula 43]



[0070] The terpene compound, formula (IX) which are expressed with *****

[0071]

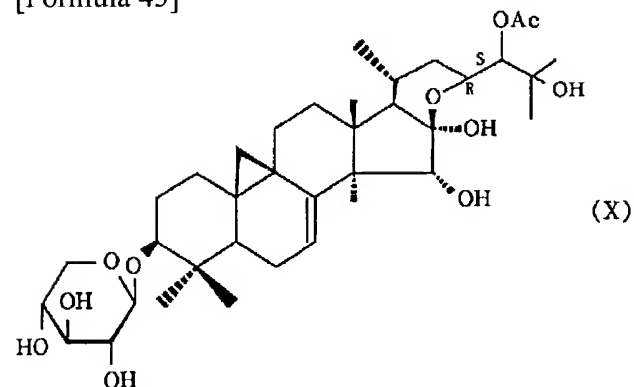
[Formula 44]



[0072] It is the terpene compound and formula (X) which are expressed with (however, R18 shows acetyl, as for hydrogen; or R18).

[0073]

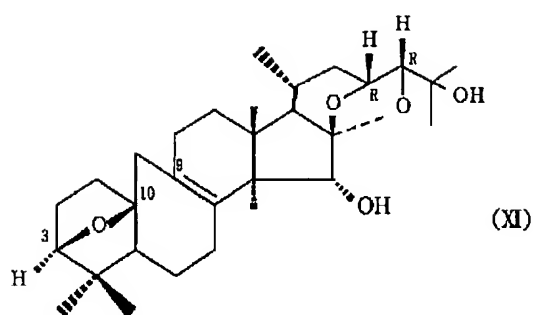
[Formula 45]



[0074] The terpene compound, formula (XI) which are come out of and expressed

[0075]

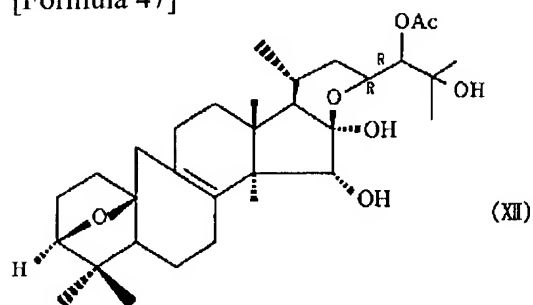
[Formula 46]



[0076] The terpene compound, formula (XII) which are come out of and expressed

[0077]

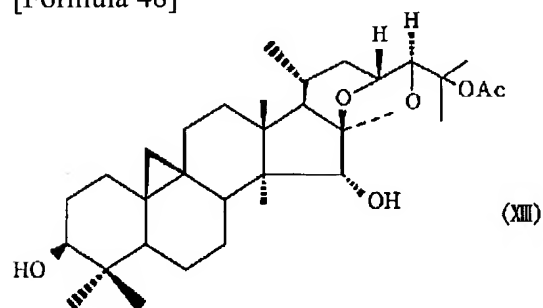
[Formula 47]



[0078] The terpene compound and formula (XIII) which are come out of and expressed

[0079]

[Formula 48]



[0080] It comes out and the terpene compound expressed is raised.

[0081] Said terpene compound also includes the acetylated acetyl object according to a conventional method.

[0082] The bone disease therapy agent of this invention is preferably prescribed for the patient by 0.1 - 3 g/kg 0.1 to 5 g/kg as an amount of adult internal use, when it contains a Cimicifugae rhizoma extract as an active principle, and when it contains each terpene compound as an active principle, it is preferably prescribed for the patient by 0.01 - 0.3 g/kg 0.01 to 0.5 g/kg as an amount of adult internal use.

[0083] The fifty percent lethal dose value in the case of administering the bone disease therapy agent of this invention orally to a rat (when making a Cimicifugae rhizoma extract into an active principle) is 2000 or more mg/kg.

[0084] By internal use, the bone disease therapy agent of this invention fully shows activity, and can use it as pharmaceutical preparation, for example as a tablet, a capsule, extracts, powder, a granule, liquids and solutions, etc.

[0085] What is necessary is in manufacturing the bone disease therapy agent of this invention, for there to be especially no limit and just to perform it according to a conventional method using the carrier usually used.

[0086] The bone disease therapy agent of this invention has the outstanding bone disease therapy operation of controlling the osteoclasts by parathyroid hormone (it abbreviating to PTH hereafter), and also controlling reduction in bone density. Moreover, since current, the calcitonin used for the therapy, vitamin D3, and bis-phosphonate were different natural product crude drugs, and the bone disease therapy agent of this invention showed loose drug effect and did not have a side effect, it was found out that the repetitive administration of the drugs over a long period of time becomes possible.

[0087] As a desirable indication of the bone disease therapy agent of this invention, osteoporosis, arthritis, the arthrosis, a hypercalcemia, etc. are raised, for example.

[0088] The extract which is an active principle in this invention is in the condition that the class of the component and a mixed ratio are desirable as a bone disease therapy agent when drug effect is shown.

[0089] Although an example is raised to below and the bone disease therapy agent of this invention is explained to it, this invention is not limited only to this example.

[0090] The rhizome (4kg) which *Cimicifuga foetida* L. extracted in China Sichuan in example 1 (a) July, 1993 air-dried was used as powder, the methanol (10l.) was added and heating reflux was carried out for 3 hours. The methanol was distilled out of the methanol extract which repeated this extract 3 times and was obtained, and 600g (A) of methanol extracts was obtained. Water (1000ml) was added to this residue, it considered as suspension, n-hexane (1000ml) was added, it agitated violently, n-hexane layer was separated, and n-hexane extract was obtained. This actuation was repeated 3 times and extracted. The ethyl-acetate extract and n-butanol extract were similarly obtained from the remaining suspension water. The solvent was distilled out of those extracts, respectively, and the extract of 50g (D) was obtained from the 236g(C) n-butanol extract. [from 130g (B) from n-hexane extract, and an ethyl-acetate extract]

[0091] Next, the chloroform-methanol (7:3 v/v) (in however, the case of hexane extractable material chloroform-methanol (9:1 v/v)) was used, and fractionation of these extracts was carried out with thin-layer chromatography, and they were made to color using a color reagent (10%Ce (SO₄) disulfuric acid water solution).

[0092] The pattern of the thin-layer chromatography of a methanol, n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol extract is shown in drawing 1.

[0093] (b) The ethyl-acetate extract (C) obtained above (a) and (200g) The column chromatography using silica gel (1.8kg) is given. Sequential elution is carried out with a chloroform and chloroform-methanol (19:1, 4:1, 7:3 and 6:4, v/v). Seven fractions I of the following I-VII, i.e., a fraction, (1.5g), Fraction II (1.0g), Fraction III (12.0g), Fraction IV (36.0g), Fraction V (43.0g), Fraction VI (19.0g), and Fraction VII (15.0g) were obtained.

[0094] (c) The fraction III (12.0g) obtained above (b) was given to the activated carbon column, sequential expansion was carried out with ethyl acetate and n-hexane-ethyl acetate (7:3, 3:2 and 1:1, v/v), and the terpene compound 1 (100mg) which has the following physical-properties constants was obtained.

[0095] Physical-properties constant mp of a compound 1: 197-198 degree-C[α] D:-50.58 degree (c=0.16, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)

EI-MS: It checked that it was the presentation of C₃₀H₄₄O₅ with m/z 484 and a 468 high-resolution mass spectrum.

IR: Give the fraction IV (36.0g) obtained with 3450, 1720, 1700, and the 1440 or 1380cm⁻¹ (d) above (b) to a silica gel column chromatography. Sequential expansion is carried out with a hexane-ethyl-acetate-methanol (1:1:0.01 and 1:1:0.05, v/v). Furthermore, fractionation was carried out to fraction IV-1 (8.0g), fraction IV-2 (2.5g), fraction fraction IV-3 (1.5g), fraction IV-4 (4.0g), and fraction IV-5 (15.0g).

[0096] The silica gel column chromatography (hexane-ethyl-acetate-MeOH=1:1:0.01, v/v) refined fraction IV-2 (2.5g) obtained further, and the terpene compounds 2 (25mg) and 3 (30mg) which have the following physical-properties constants were obtained.

[0097] physical-properties constant mp:255-256-degree-C[α] D:-93.50-degree(c= 0.12, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v) EI-MS of a compound 2: m/z 444 and 438 elemental analysis: C₂₇H₄₀O₅

Calculated value: C72.94, H, 9.07, and actual measurement: C73.18, H, and 8.79 IR: Physical-properties constant mp: 245-246-degree-C[alpha] D: +8.42-degree (c= 0.14, CHCl3:MeOH=1:1, v/v) POJITIVU ion FAB-MS of 3450 and 1718 or 1620cm⁻¹ compound 3: It checked that it was the presentation of C35H55O8 with the m/z 603 [M+H]⁺ high-resolution mass spectrum.

IR: Fraction IV-4 (4.0g) obtained with the 3400 or 1400cm⁻¹ (e) above (d) was given to the silica gel column, it developed with the hexane-ethyl-acetate-methanol (1:1:0.05 v/v), and the terpene compounds 4 (20mg), 5a (25mg), and 6 (3.0g) which have the following physical-properties constants were obtained.

[0098] Physical-properties constant mp: 157-158-degree-C[alpha] D: +14.02-degree (c= 0.30, CHCl3:MeOH=1:1, v/v) POJITIVU ion FAB-MS of a compound 4: It checked that it was the presentation of C35H53O8 with the m/z 601 [M+H]⁺ high-resolution mass spectrum.

IR: 3420, 2960, 2920, 1620, physical-properties constant mp: 234-235-degree-C[alpha] D of 1380 or 1040cm⁻¹ compound 5a: -99.33-degree (c= 0.30, CHCl3:MeOH=1:1, v/v) POJITIVU ion FAB-MS: It checked that it was the presentation of C37H55O10 with the m/z 659 [M+H]⁺ high-resolution mass spectrum.

IR: 3420, 2950, physical-properties constant mp: 182-183-degree-C[alpha] D of 1740 or 1720cm⁻¹ compound 6: -66.06 degrees POJITIVU (c= 0.30, CHCl3:MeOH=1:1, v/v) ion FAB-MS: It checked that it was the presentation of C37H57O11 with the m/z 677 [M+H]⁺ high-resolution mass spectrum.

IR: Compound 5a (10mg) obtained with 3420, 2960, and the 2920 or 1740cm⁻¹ (f) above (e) was dissolved in the dried pyridine (1ml), the acetic anhydride (0.5ml) was added, and it agitated at 25-27 degrees C for 12 hours. By distilling a solvent out of this reaction mixture at 40 degrees C under reduced pressure, giving the obtained residue to the thin-layer chromatography for preparative isolation, and developing using chloroform, the generated acetyl object (compound 5b) was refined, and it isolated preparatively.

[0099] (g) The fraction V (43.0g) obtained above (b) was repeated and recrystallized with the chloroform-methanol (7:3 v/v), and terpene compound 7a (2.0g) which has the following physical-properties constants was obtained.

[0100] Physical-properties constant mp of compound 7a: 214-215-degree-C[alpha] D: -42.32 degree Negative (c= 0.20, CHCl3:MeOH=1:1, v/v) ion FAB-MS: It checked that it was the presentation of C35H51O9 with the m/z 615 [M-H]⁻ high-resolution mass spectrum.

IR: Compound 7a obtained above (g) was acetylated like 3450, 2960, 2925, 2850, 1720, and the 1380 or 1040cm⁻¹ (h) above (f), and compound 7b was obtained.

[0101] (i) The fraction VI (19.0g) obtained above (b) was given to the column chromatography filled up with Cosmosil (Cosmosil) 140 C18 (Nakarai Tesuku Make, 85.0g), sequential expansion was carried out with methanol-water (1:1 and 7:3, v/v), and terpene compound 8a (1.5g) which has the following physical-properties constants was obtained from the first elution fraction. It is Cosmosil further about a next elution fraction. The column chromatography filled up with 140 C18 (50.0g) was given, it developed with methanol-water (1:1 and 7:3, v/v), and the terpene compounds 9 (3mg) and 10 (5mg) which have the following physical-properties constants were obtained.

[0102] Physical-properties constant mp: 171-172-degree-C[alpha] D of compound 8a: -30.73-degree (c= 0.60, CHCl3:MeOH=1:1, v/v) POJITIVU ion FAB-MS: It checked that it was the presentation of C35H55O10 with the m/z 635 [M+H]⁺ high-resolution mass spectrum.

IR: 3400, 2950, 2900, physical-properties constant mp: 212-213.5-degree-C[alpha] D of 1720 or 1040cm⁻¹ compound 9: -43.46-degree (c= 0.27, CHCl3:MeOH=1:1, v/v) POJITIVU ion FAB-MS: It checked that it was the presentation of C32H49O9 with the m/z 577 [M+H]⁺ high-resolution mass spectrum.

IR: 3400, 2900, 2850, physical-properties constant mp: 164-165-degree-C[alpha] D of 1720 or 1040cm⁻¹ compound 10: -73.64-degree (c= 0.36, CHCl3:MeOH=1:1, v/v) POJITIVU ion FAB-MS: It checked that it was the presentation of C32H49O10 with the m/z 593 [M+H]⁺ high-resolution mass spectrum.

IR: Compound 8a obtained above (i) was acetylated like 3400, 2900, 2850, and the 1720 or 1040cm⁻¹ (j) above (f), and compound 8b was obtained.

[0103] (k) The above (b) You give the obtained fraction VII (10.0g) to an activated carbon column, and make it eluted with a methanol, and it is Cosmosil further about the elution fraction. The column chromatography filled up with 140 C18 was given, sequential expansion was carried out with methanol-water (1:1 and 7:3, v/v), and the terpene compound 11 (20mg) which has the following physical-properties constants was obtained.

[0104] Physical-properties constant mp:134-135-degree-C[alpha] D of a compound 11: -45.70-degree (c= 0.38, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v) POJITIVU ion FAB-MS: It checked that it was the presentation of C₃₅H₅₇O₁₁ with the m/z 651 [M+H]⁺ high-resolution mass spectrum.

IR: As for compounds 1-4, in a table 1-1 and 1-2, and compounds 5-8, a table 1-3 and 1-4, and compounds 9-11 show 3400, 2950, 2900, and 1 H-NMR data of 1720 or 1040cm⁻¹ each compounds 1-11 to a table 1-5 and 1-6, respectively.

[0105]

[A table 1]

表 1 - 1

化合物番号 1H	1	2	3	4
1	1.68td(12.5, 5.5) 2.76dt(12.5, 3.5)	1.73td(12.5, 6.5) 2.76dt(12.5, 3.5)	1.25m 1.61m	5.52brd(5.0) —
2	2.23m —	2.06m —	1.97m 2.37m	2.35m 2.77dt(17.5, 5.0)
3	3.60dd(10.0, 5.5)	3.63dd(10.0, 5.5)	3.57dd(11.5, 4.5)	3.65m
5	1.33dd(12.5, 6.5)	1.38dd(12.5, 5.5)	1.37dd(12.5, 4.5)	2.38m
6	1.77ddd(17.5, 12.5, 2.0) 2.00m	1.85ddd(16.0, 12.5, 2.0) 2.01ddd(16.0, 7.5, 5.5)	0.74qd(12.5, 1.5) 1.58td(7.0, 1.5)	2.62dt(14.5, 5.0) 2.39m
7	5.17dd(7.5, 2.0) —	5.25dd(7.5, 2.0) —	2.09m 1.10qd(7.0, 1.5)	5.58brd(7.5) —
8	—	—	1.68m	—
11 _α	4.54dd(9.5, 3.5)	4.62ddd(9.0, 5.5, 3.5)	2.14m	5.39brd(5.5)
11 _β	—	6.01d(5.5, -OH)	1.21m	—
12 _α	2.82dd(14.0, 9.5)	2.87dd(13.5, 9.0)	1.71m	1.95dd(17.5, 5.5)
12 _β	2.19dd(14.5, 3.5)	2.09dd(13.5, 3.5)	1.55m	2.25brd(17.5)
15 _α	2.30d(18.0)	2.27d(13.5)	—	2.05d(13.0)
15 _β	2.50d(18.0)	2.56d(13.5)	4.28brs	2.32d(13.0)
16	—	—	—	—
17	2.38d(9.0)	2.26d(10.0)	1.46d(11.0)	1.55d(10.5)
18-H ₃	1.23s	1.29s	1.16s	0.77s
19	0.98d(4.0) 1.96d(4.0)	1.08d(4.0) 2.04d(4.0)	0.30d(4.0) 0.55d(4.0)	3.15d(14.0) 3.21d(14.0)
20	2.59m	2.19m	1.66m	1.60m

[0106]

[A table 2]

表 1 - 2

21-H ₃	1.04d(6.5)	0.93d(5.5)	0.86d(7.0)	0.83d(6.0)
22	2.63dd(15.5, 8.0) 3.61dd(15.5, 9.5)	2.42dd(18.5, 4.0) 2.52dd(18.5, 12.0)	1.00brt(12.5) 2.26ddd(12.5, 9.5, 7.5)	0.99m 2.23m 4.74brd(9.5)
23	—	—	4.30brd(7.5)	3.67brs
24	3.72s	4.50s	4.17brs	1.51s
26	—	—	4.88brs	—
26-H ₃	1.37s	—	5.33brs	—
27	—	—	1.84s	1.443s
27-H ₃	1.35s	—	—	—
28-H ₃	1.21s	1.62s	1.18s	1.29s
29-H ₃	1.28s	1.30s	1.33s	1.437s
30-H ₃	1.18s	1.21s	1.08s	0.94s
1	—	—	4.86d(7.5)	4.75d(7.5)
2	—	—	4.02t(7.5)	3.97t(7.5)
2'-OH	—	—	—	—
3	—	—	4.15t(8.5)	4.10t(8.5)
4	—	—	4.22ddd(11.0, 8.5, 5.0)	4.18ddd(11.0, 8.5, 5.0)
5	—	—	3.73t(11.0)	3.68t(11.0)
COCH ₃	—	—	4.34dd(11.0, 5.0)	4.32dd(11.0, 5.0)

[0107]

[A table 3]

表 1 - 3

化合物番号 1H	5	6	7	8
1	1.21m 1.63td(12.5, 4.0)	1.11m 1.48m	1.62td(13.5, 5.5) 2.66dt(13.5, 3.5)	1.68m 2.76m
2	1.94m 2.29m	1.51m 1.81m	1.96dt(13.5, 3.5) 2.27m	2.08qd(12.5, 4.0) 2.41m
3	3.46dd(11.5, 4.0)	3.06dd(13.0, 4.5)	3.48dd(11.5, 3.0)	3.59dd(11.5, 3.0)
5	1.25m	1.23dd(11.0, 4.5)	1.30m	1.34dd(12.5, 5.5)
6	1.55m 1.86ddd(12.5, 7.5, 5.0)	0.82m 1.51m	1.68brt(12.5) 1.92m	1.73m 1.93m
7	5.08dd(7.5, 2.0)	1.28brt(13.0) 1.71dd(13.0, 3.5)	5.12dd(7.5, 2.0)	5.13dd(7.5, 2.0)
8	—	1.58m	—	—
11 _α	2.88dd(16.0, 9.0)	2.48m	4.46dd(9.5, 3.5)	4.53dd(9.0, 3.5)
11 _β	1.30m	0.99m	—	—
12 _α	5.60dd(9.0, 1.5)	4.74dd(9.0, 3.5)	2.76dd(14.5, 9.5)	2.77dd(13.5, 9.0)
12 _β	—	—	2.12dd(14.5, 3.5)	2.20dd(13.5, 3.5)
15 _α	2.32d(17.5)	1.44m	2.25d(18.0)	2.26d(18.0)
15 _β	2.60d(17.5)	1.79m	2.44d(18.0)	2.47d(18.0)
16	—	4.26td(8.0, 7.0)	—	—
17	2.71d(2.5)	1.69t(8.0)	2.33d(9.0)	2.42d(9.0)
18-H ₃	1.36s	1.13s	1.17s	1.22s
19	0.60d(4.0) 1.09d(4.0)	0.33d(4.5) 0.60d(4.5)	0.91d(4.0) 1.87d(4.0)	0.95d(4.0) 1.95d(4.0)
20	2.81m	1.59m	2.51m	2.74m

[0108]

[A table 4]

表 1 - 4

21-H ₃	1.22d(7.0)	0.87d(6.0)	1.00d(6.0)	1.13d(6.5)
22	2.92dd(18.0, 4.0) 3.00dd(18.0, 8.0)	0.94m 1.32m	2.59dd(16.5, 9.5) 3.55dd(16.5, 7.0)	3.43dd(18.0, 9.0) 3.85dd(18.0, 3.0)
23	—	—	—	—
24	3.67s	3.53s	3.65d(0.5)	4.49s
26	—	—	—	—
26-H ₃	1.29s	1.43s	1.37s	1.66s
27	—	4.99d(5.5) 6.49d(5.5, -OH)	—	—
27-H ₃	1.33s	—	1.31s	1.54s
28-H ₃	1.20s	0.84s	1.17s	1.16s
29-H ₃	1.33s	0.96s	1.33s	1.41s
30-H ₃	1.03s	0.77s	1.07s	1.15s
1 ⁻	4.82d(7.5)	4.12d(7.5)	4.74d(7.5)	4.87d(7.5)
2 ⁻	4.01t(7.5)	2.95td(8.5, 5.0)	3.87t(7.5)	4.03t(7.5)
2 ⁻ -OH	—	4.90d(5.0)	—	—
3 ⁻	4.13t(8.5)	3.05m	4.00t(8.5)	4.15t(8.5)
4 ⁻	4.21ddd(10.0, 8.5, 5.0)	3.24m	4.06m	4.21ddd(10.0, 8.5, 5.0)
5 ⁻	3.71dd(11.0, 10.0) 4.34dd(11.0, 5.0)	3.00t(11.0) 3.64dd(11.0, 5.5)	3.61t(11.0) 4.23dd(11.0, 4.5)	3.73dd(11.0, 10.0) 4.34dd(11.0, 5.0)
COCH ₃	2.26s	1.96s	—	—

[0109]

[A table 5]

表 1 - 5

化合物番号 1 _H	9	10	11
1	1.73m 2.75dt(12.0, 3.5)	1.73td(12.5, 6.0) 2.77dt(12.5, 3.5)	1.68m 2.81m
2	2.10m 2.41m	2.13m 2.42m	2.05m 2.39m
3	3.59dd(11.5, 3.5)	3.61dd(11.0, 4.0)	3.58dd(11.5, 3.5)
5	1.35dd(12.0, 5.5)	1.44dd(12.0, 5.5)	1.34m
6	1.77ddd(16.0, 12.5, 2.0) 1.95ddd(16.0, 7.5, 5.5)	1.81ddd(16.0, 12.0, 2.0) 2.10m	1.73m 2.03m
7	5.22dd(7.5, 2.0)	6.23dd(7.5, 2.0)	6.18dd(7.5, 2.0)
8	—	—	—
11 _α	4.59dd(9.0, 3.5)	4.61dd(9.0, 3.5)	4.60dd(9.0, 3.5)
11 _β	—	—	—
12 _α	2.85dd(13.5, 9.0)	2.81dd(13.5, 9.0)	2.80dd(13.5, 9.0)
12 _β	2.07dd(13.5, 3.5)	2.06dd(13.5, 3.5)	2.23dd(13.5, 3.5)
15 _α	2.26d(13.5)	—	—
15 _β	2.55d(13.5)	4.76s	4.56s
16	—	—	—
17	2.25d(10.0)	2.45d(10.0)	2.25d(7.5)
18-H ₃	1.26s	1.30s	1.40s
19	1.02d(4.0) 2.00d(4.0)	1.06d(4.0) 2.02d(4.0)	1.02d(4.5) 1.96d(4.5)
20	2.19m	2.15m	2.79m

[0110]

[A table 6]

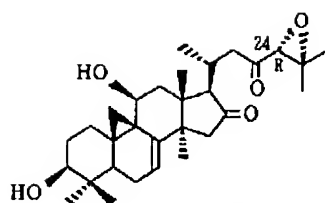
表 1 - 6

21-H ₃	0.92d(6.0)	0.92d(5.5)	1.13d(6.5)
22	2.42dd(18.5, 4.0) 2.52dd(18.5, 12.0)	2.41dd(18.5, 4.0) 2.49dd(18.5, 11.5)	3.43dd(18.0, 9.0) 3.86dd(18.0, 3.0)
23	—	—	—
24	4.50s	4.53s	4.46s
26	—	—	—
26-H ₃	—	—	1.63s
27	—	—	—
27-H ₃	—	—	1.50s
28-H ₃	1.60s	1.51s	1.28s
29-H ₃	1.41s	1.41s	1.38s
30-H ₃	1.16s	1.16s	1.15s
1'	4.88d(7.5)	4.88d(7.5)	4.85d(7.5)
2'	4.03t(7.5)	4.01t(7.5)	4.00t(7.5)
2'-OH	—	—	—
3'	4.15t(8.5)	4.14t(8.5)	4.13t(8.5)
4'	4.20ddd(11.0, 8.5, 5.0)	4.20ddd(11.0, 8.5, 5.0)	4.16ddd(10.0, 8.5, 5.0)
5'	3.73t(11.0) 4.34dd(11.0, 5.0)	3.72t(11.0) 4.33dd(11.0, 5.0)	3.71dd(11.0, 10.0) 4.31dd(11.0, 5.0)
COCH ₃	—	—	—

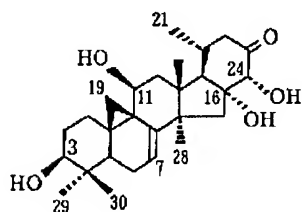
[0111] The structure expression of each compounds 1-11 is shown below.

[0112]

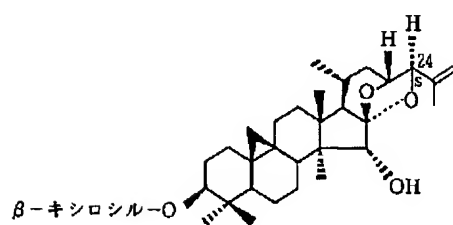
[Formula 49]



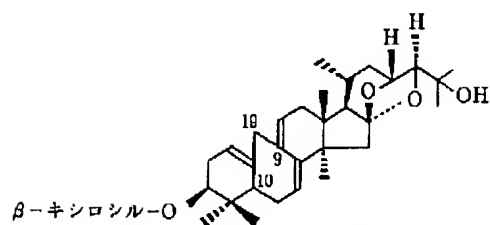
化合物 1



化合物 2

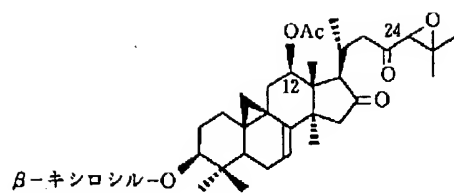


化合物 3

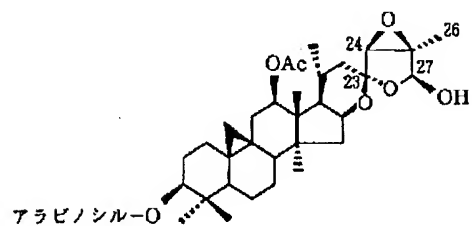


化合物 4

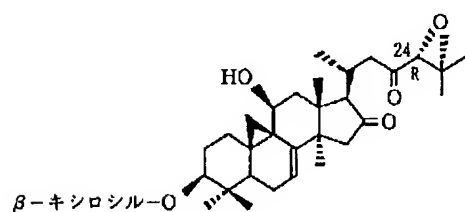
[0113]
[Formula 50]



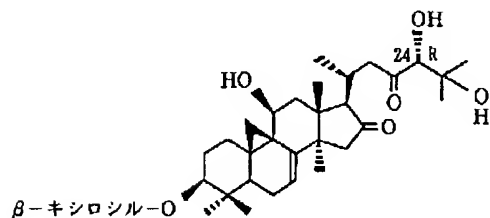
化合物 5 a



化合物 6



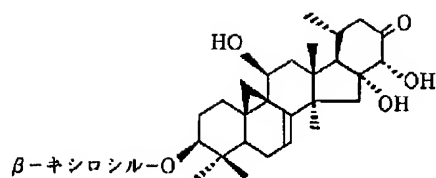
化合物 7 a



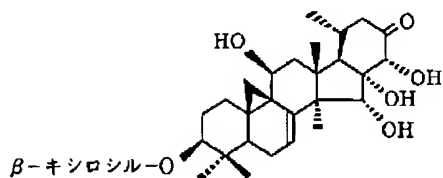
化合物 8 a

[0114]

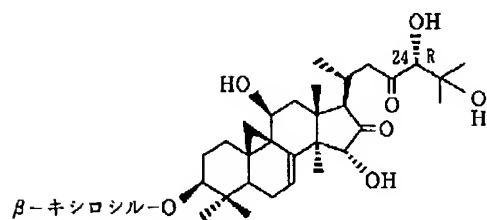
[Formula 51]



化合物 9



化合物 10



化合物 11

[0115] About the drug effect of the extract of the Cimicifugae rhizoma obtained in the example 1 next, it is in. The example of a trial in vitro is given and explained.

[0116] It is the methanol extract (A) obtained by methanol extract in the example of trial 1 example 1 in 100ml Ham's 1.06g (NISSUI PHARMACEUTICAL CO., LTD. make) of F-12 powder, 5ml (it receives from HS and the Osaka University microorganism disease seminar) of inactivation horse serum, NaHCO₃ 0.22g, 20mM CaCl₂ Using the culture medium containing 5ml, test fluid was prepared so that it might become in 440microg [ml] /and ml and 44microg /.

[0117] They are ⁴⁵CaCl₂(s) to the mouse of two ages in day. 2microcurie was administered hypodermically, two days after, extraction isolation of the parietal bone was carried out, preculture was carried out for 24 hours through the air which contains CO₂ 5% in 37 degrees C, and after adding PTH to the culture medium so that the last concentration may be set to 2x10⁻⁹M, 1ml of said test fluid of two sorts of concentration was added, respectively. This was cultivated on preculture and these conditions for further 72 hours. ⁴⁵calcium emitted into culture medium was measured (measured value 1). This culture medium was exchanged to new culture medium (1ml), and it cultivated on the above and these conditions for further 72 hours. ⁴⁵calcium in this culture medium was measured like the above (measured value 2). Furthermore, the parietal bone was delimed at 4 degrees C for 72 hours using ejection and 1ml (pH5.5) of 0.01MEDTA-acetic acids from culture medium, and ⁴⁵calcium in the deliming liquid was measured (measured value 3). The burst size of ⁴⁵calcium was computed by % in the following formula using such measured value.

[0118]

[Equation 1]

$$^{45}\text{Ca の放出量 (\%)} = \frac{\text{測定値 1} + \text{測定値 2}}{\text{測定値 1} + \text{測定値 2} + \text{測定値 3}} \times 100$$

[0119] A result is shown in a table 2.

[0120]

[A table 7]

表 2
 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	20.51 ± 1.81
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	50.61 ± 1.98

[0121] It is clearer than this result the methanol extract's (A)'s obtained in the example 1 to control the osteoclasts by PTH strongly.

[0122] Two sorts of test fluid was prepared like the example 1 of a trial so that it might become concentration (440microg [ml] /and 44microg/ml) about the hexane extractable material (B) obtained in the example of trial 2 example 1. The same trial as the example 1 of a trial was performed using this test fluid. A result is shown in a table 3.

[0123]

[A table 8]

表 3
 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	39.69 ± 1.45
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	44.27 ± 0.47

[0124] It is clearer than this result hexane extractable material's (B)'s obtained in the example 1 to control the osteoclasts by PTH strongly.

[0125] The test fluid of two sorts of concentration was prepared like the example 1 of a trial so that it might become concentration (440microg [ml] /and 44microg/ml) about the ethyl-acetate extract (C) obtained in the example of trial 3 example 1.

[0126] The same trial as the example 1 of a trial was performed using this test fluid. A result is shown in a table 4.

[0127]

[A table 9]

表 4
 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	20.66 ± 1.36
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	49.66 ± 1.22

[0128] It is clearer than this result the ethyl-acetate extract's (C)'s obtained in the example 1 to control the osteoclasts by PTH strongly.

[0129] The test fluid of two sorts of concentration was prepared like the example 1 of a trial so that it might become concentration (440microg [ml] /and 44microg/ml) about the butanol extract (D) obtained in the example of trial 4 example 1. The same trial as the example 1 of a trial was performed using this test fluid. A result is shown in a table 5.

[0130]

[A table 10]

表 5
 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	15.46 ± 4.53
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	52.95 ± 1.27

[0131] It is clearer than this result the butanol extract's (D)'s obtained in the example 1 to control the osteoclasts by PTH strongly.

[0132] The powder (5.5kg) which air-dried the rhizome of Cimicifuga heracleifolia KOMAROV extracted in example 2 China and ***** was added into the methanol (12l.), heating reflux was carried out for 3 hours, and it extracted. This actuation was repeated 3 times, the extract was doubled, the methanol was distilled out of the extract, and the methanol extract (902g) (E) was obtained. 1000ml of water was added to this quality of an extract (E), it considered as suspension, and hexane 1000ml was added and extracted.

[0133] This was repeated 3 times, the hexane extract was obtained, the hexane was distilled off and hexane extractable material (50g) (F) was obtained. Furthermore, the ethyl-acetate extract (250g) (G) and the butanol extract (50g) (H) were obtained for this water suspension by the same extract approach. Next, fractionation of these extracts was carried out with thin-layer chromatography like the example 1, and they were made to color. The pattern of the thin-layer chromatography of a methanol, a hexane, ethyl acetate, and a butanol extract is shown in drawing 2 . [0134] Each terpene compound (12-22) was refined like the example 1 from said ethyl-acetate extract. As for compounds 12, 13, 17, and 18, in a table 6-1 and 6-2, and compounds 14, 15, 16, and 19, a table 6-3 and 6-4, and compounds 20-22 show 1 H-NMR data of each compounds 12-22 to a table 6-5 and 6-6, respectively.

[0135]

[A table 11]

表 6 - 1

化合物番号 1H	12	17	18	13
1	1.37m 1.72m	1.36m 1.73m	1.58m 1.72m	1.57m 1.83td(13.5, 4.5)
2	1.68ddd(13.0, 4.0, 2.2) 1.75m	1.67m 1.75m	1.66m 1.75m	2.30ddd(13.5, 4.5, 2.0) 2.78td(13.5, 6.5)
3	3.33dd(11.4, 4.0)	3.32dd(11.2, 3.6)	3.33dd(11.0, 4.0)	—
5	1.25m	1.24m	1.24m	1.62m
6	1.63m	1.63m	1.63m	1.74m
	2.01ddd(13.0, 7.5, 2.2)	1.99ddd(17.0, 7.5, 5.5)	1.97m	—
7	5.62dd(7.5, 2.2)	5.64dd(7.5, 2.1)	5.62dd(7.5, 2.2)	6.05dd(7.4, 2.0)
8	—	—	—	—
11	1.20m	1.19m	1.15m	1.38m
	2.13ddd(13.0, 7.0, 3.5)	2.16ddd(13.0, 10.0, 4.0)	2.15m	2.09m
12	1.70m	1.69m	1.67m	1.70m
	1.77ddd(13.0, 8.0, 3.5)	1.79m	1.79m	1.78m
15	4.04d(8.4)	4.12d(7.1)	4.12d(8.4)	4.05s
15-OH	2.78d(8.4)	2.62d(7.1)	2.73d(8.4)	—
16-OH	—	—	—	—
17	1.30d(6.6)	1.38d(6.7)	1.37m	1.74d(6.8)
19	0.55d(4.0)	0.54d(4.3)	0.54d(4.0)	0.71d(4.0)
	1.09d(4.0)	1.11m	1.07d(4.0)	1.22d(4.0)
20	1.60m	1.67m	1.62m	1.75m
22	1.96ddd(13.0, 6.6, 2.2) 2.15ddd(13.0, 10.0, 2.2)	0.97m 2.33ddd(13.0, 10.0, 3.0)	1.01m 2.32ddd(13.0, 6.5, 2.5)	1.98ddd(13.0, 6.0, 2.5) 2.65m

[0136]

[A table 12]

表 6 - 2

23	4.45ddd(10.0, 4.2, 2.2)	4.48dd(10.0, 1.8)	4.39brd(10.0)	4.62ddd(9.5, 4.2, 2.5)
24	3.57d(4.2)	3.46d(0.5)	3.92s	3.73d(4.2)
18c)	1.03s	1.03s	1.03s	1.19s
21c)	0.90d(6.6)	0.91d(6.7)	0.90d(7.0)	0.98d(5.5)
26c)	1.33s	1.20s	1.48s	1.43s
27c)	1.22s	1.20s	1.42s	1.29s
28c)	1.06s	1.09s	1.06s	1.26s
29c)	1.01s	1.01s	1.01s	1.07s
30c)	0.85s	0.86s	0.85s	1.11s
1'	—	—	—	—
2'	—	—	—	—
3'	—	—	—	—
3'-OH	—	—	—	—
4'	—	—	—	—
5'	—	—	—	—
COCH ₃	—	—	1.99s	—
COCH ₃	—	—	—	—
IR(cm ⁻¹)	3450, 1620	3425, 1620, 1260	—	3470, 1720
MS(m/z)	486, 468, 453	486, 468, 453	528, 510, 468, 435, 409	484, 469, 466
旋光度	+6.36° (CHCl ₃)	—	—	-12.4° (CHCl ₃)
mp(°C)	222~223	198~199	205~206	225~226
分子式 (high resolution EI-MS)	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	C ₃₀ H ₄₄ O ₅
形状・色調	無色針晶	無色粉末	無色粉末	無色針状結晶

[0137]

[A table 13]

表 6 - 3

化合物番号 1H	14	15	16	19
1	1.35m	1.35ddd(12.5, 4.1, 3.0)	1.47m	1.34m
	1.69m	1.63m	1.68m	1.69m
2	1.75m	1.95m	1.96m	1.95m
	1.93m	2.29ddd(12.5, 4.1, 3.0)	2.31ddd(12.5, 4.3, 3.0)	2.29ddd(12.0, 4.0, 3.0)
3	3.20dd(11.4, 4.0)	3.45dd(11.4, 4.1)	3.46dd(11.6, 4.3)	3.44dd(11.6, 4.0)
5	1.25m	1.28m	1.30m	1.24m
6	1.65m	1.59m	1.60m	1.61m
	1.79m	1.88m	1.91m	1.88m
7	5.60dd(7.5, 2.2)	6.05dd(7.4, 1.5)	6.04dd(7.4, 2.0)	6.06dd(7.5, 1.5)
8	—	—	—	—
11	1.20m	1.13m	1.12m	1.14m
	2.15m	2.12ddd(13.0, 8.0, 2.8)	2.12ddd(13.0, 9.0, 3.0)	2.14ddd(12.5, 9.0, 4.0)
12	1.71m	1.67m	1.67m	1.66m
	1.77m	—	1.71m	1.77m
15	4.03d(7.9)	4.49d(7.5)	4.48d(7.5)	4.26d(7.5)
15-OH	2.76d(7.9)	4.58d(7.5)	4.52d(7.5)	4.63d(7.5)
16-OH	—	—	—	8.47s
17	1.32d(6.6)	1.73m	1.73m	1.49m
19	0.55d(4.9)	0.51d(4.0)	0.51d(4.0)	0.50d(4.0)
	1.08d(4.9)	1.06d(4.0)	1.06d(4.0)	1.05d(4.0)
20	1.60m	1.72m	1.70m	1.74m
22	1.95m	1.85m	1.96m	1.55m
	2.13m	2.64ddd(13.0, 9.7, 2.1)	2.61ddd(13.0, 9.7, 2.0)	1.91m

[0138]

[A table 14]

表 6 - 4

23	4.44ddd(10.0, 4.0, 2.2)	4.60ddd(9.7, 4.1, 2.1)	4.60ddd(9.7, 4.1, 2.0)	4.18t(8.8)
24	3.57d(4.0)	3.72d(4.1)	3.71d(4.1)	4.82d(2.0)
18c)	1.02s	1.18s	1.16s	1.18s
21c)	0.89d(6.6)	0.98d(5.8)	0.98d(5.5)	0.96d(6.7)
26c)	1.33s	1.42s	1.41s	1.69s
27c)	1.22s	1.28s	1.31s	1.49s
28c)	1.05s	1.26s	1.27s	1.34s
29c)	0.97s	1.28s	1.28s	1.29s
30c)	0.85s	1.00s	1.05s	1.04s
1'	4.60d(5.9)	4.81d(7.3)	4.79d(7.3)	4.76d(7.3)
2'	4.85dd(7.0, 5.9)	4.01dd(9.2, 7.3)	3.96dd(8.5, 7.3)	3.94dd(8.6, 7.3)
3'	3.78m	5.68t(9.2)	4.08t(8.5)	4.06t(8.6)
3'-OH	2.91s	—	—	—
4'	4.82td(7.0, 4.0)	4.20td(9.2, 5.2)	4.17td(8.5, 5.2)	4.15td(8.6, 5.2)
5'	3.39dd(12.0, 7.0)	3.96t(10.7)	3.67t(10.1)	3.65t(10.1)
	4.15dd(12.0, 4.0)	4.31dd(10.7, 5.2)	4.31dd(10.1, 5.2)	4.29dd(10.1, 5.2)
COCH ₃	2.11s	1.98s	—	2.02s
COCH ₃	2.13s	—	—	—
IR(cm ⁻¹)	3550, 1740, 1635	3420, 1725, 840	3420, 1630	3346, 1740, 1240
MS(m/z)	703	681	619	679
施光度	-15.5° (CHCl ₃)	-13.2° (CHCl ₃ :MeOH=2:3)	-9.6° (CHCl ₃ :MeOH=2:3)	-27.4° (CHCl ₃ :MeOH=2:3)
mp(°C)	206~207.5	243~244	215~216	208~208.5
分子式 (high resolution EI-MS法)	C ₃₉ H ₅₈ O ₁₁	C ₃₇ H ₅₆ O ₁₀	C ₃₅ H ₅₄ O ₉	C ₃₇ H ₅₈ O ₁₁
形状・色調	無色粉末	無色粉末	無色粉末	無色粉末

[0139]
[A table 15]

表 6 - 5

化合物番号 1H	20	21	22
1	2.45m	2.30m 2.49m	1.96m
2	1.59m 1.70m	1.51m 1.70m	1.22m 1.58m
3	3.73d(5.5)	3.73d(5.5)	3.29dd(11.6, 4.6)
5	1.20m	1.18d(12.0)	1.30m
6	1.73m 1.92m	1.72m 1.93ddd(12.0, 7.5, 4.5)	1.32m 1.61m
7	1.41td(12.0, 4.5) 1.62m	1.38td(12.0, 4.5) 1.58m	0.80m 1.76m
8	—	—	1.63m
11	2.10m 1.70m	2.09m —	1.04m 1.69m
12	1.54m 1.86m	1.47m 1.85m	1.67m 1.79m
15	4.00d(8.1)	3.89d(6.0)	3.19d(8.4)
15-OH	2.75d(8.1)	4.09d(6.0)	2.64d(8.4)
16-OH	—	4.92s	—
17	1.80d(11.0)	1.58m	1.38m
19	1.68d(13.4) 3.14d(13.4)	1.65d(13.4) 3.10d(13.4)	0.37d(4.3) 0.63d(4.3)
20	1.61m	1.58m	1.62m
22	1.96m 2.15ddd(13.0, 9.5, 2.5)	1.56m 1.70m	1.00m 2.34ddd(13.0, 7.5, 2.5)

[0140]
[A table 16]

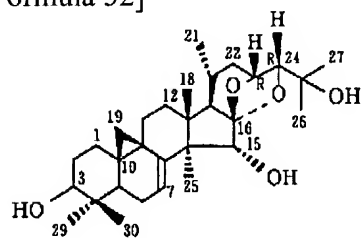
表 6 - 6

23	4.45ddd(9.5, 4.2, 2.5)	4.07m	4.38brd(9.2)
24	3.57d(4.2)	5.10d(9.5)	3.88s
18c)	0.88s	0.81s	1.09s
21c)	0.91d(6.6)	1.00d(6.4)	0.88d(7.2)
26c)	1.31s	1.29s	1.47s
27c)	1.21s	1.13s	1.41s
28c)	0.95s	0.88s	0.95s
29c)	1.01s	1.02s	1.00s
30c)	0.92s	0.88s	0.81s
1'	—	—	—
2'	—	—	—
3'	—	—	—
3'-OH	—	—	—
4'	—	—	—
5'	—	—	—
COCH ₃	—	2.05s	1.99s
COCH ₃	—	—	—
IR(cm ⁻¹)	3510, 1380, 1240	3152, 1725	—
MS(m/z)	486, 468, 453, 435, 389	546, 528, 311	530, 512, 452
施光度	+59.23(CHCl ₃)	+33.8° (CHCl ₃)	—
mp(°C)	230~231	238~239	201~202.5
分子式 (high resolution E1-MS16)	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	C ₃₂ H ₅₀ O ₇	C ₃₂ H ₅₀ O ₆
形状・色調	無色針晶	無色針晶	無色粉末

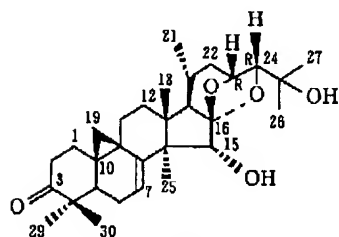
[0141] The structure expression of each compounds 12-22 is shown below.

[0142]

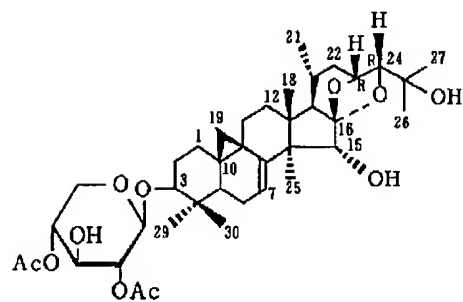
[Formula 52]



化合物 12



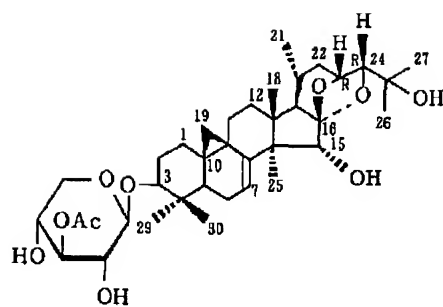
化合物 13



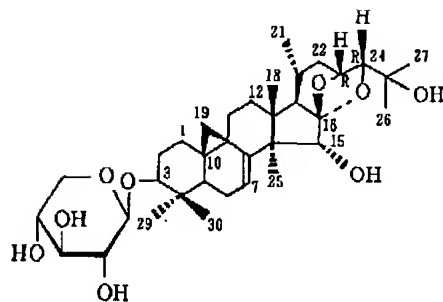
化合物 14

[0143]

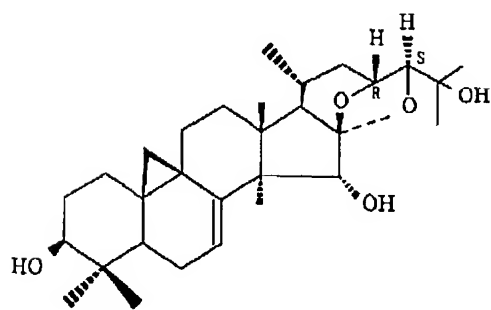
[Formula 53]



化合物 15

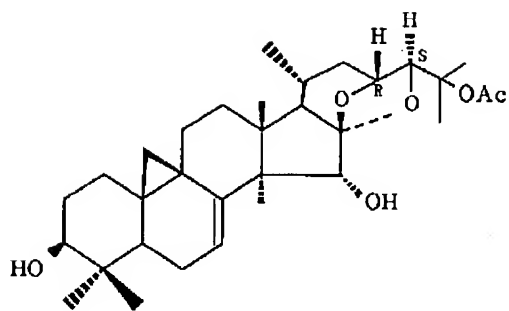


化合物 16

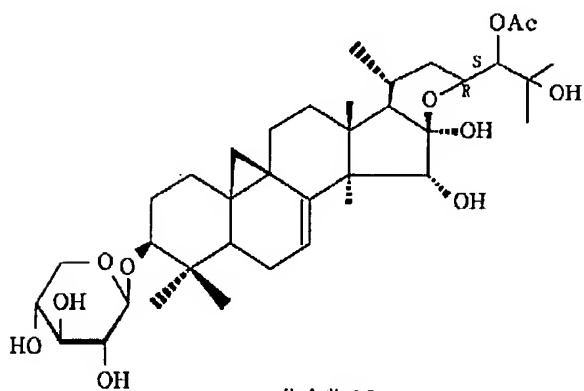


化合物 17

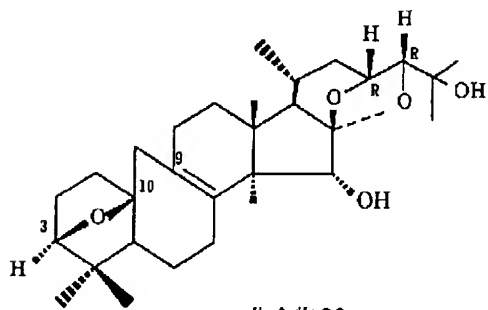
[0144]
[Formula 54]



化合物 18



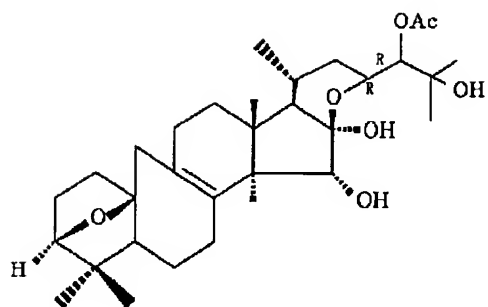
化合物 19



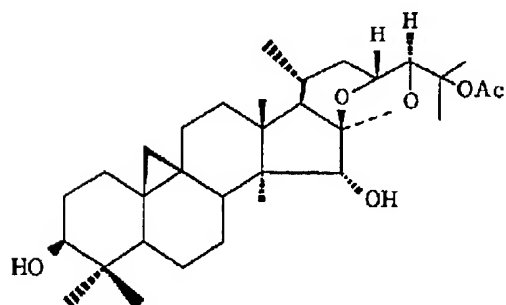
化合物 20

[0145]

[Formula 55]



化合物 21



化合物 22

[0146] The test fluid of two sorts of concentration was prepared like the example 1 of a trial so that it might become concentration (440microg [ml] /and 44microg/ml) about the methanol extract (E) obtained in the example of trial 5 example 2. The same trial as the example 1 of a trial was performed using this test fluid. A result is shown in a table 7.

[0147]

[A table 17]

表 7

^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	16.60 ± 0.77
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	57.98 ± 2.65

[0148] It is clearer than this result the methanol extract's (E)'s obtained in the example 2 to control the osteoclasts by PTH strongly.

[0149] The test fluid of two sorts of concentration was prepared like the example 1 of a trial so that it might become concentration (440microg [ml] /and 44microg/ml) about the hexane extractable material (F) obtained in the example of trial 6 example 2. The same trial as the example 1 of a trial was performed using this test fluid. A result is shown in a table 8.

[0150]

[A table 18]

表 8

 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	40.59 ± 1.12
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	45.77 ± 1.50

[0151] It is clearer than this result hexane extractable material's (F)'s obtained in the example 2 to control the osteoclasts by PTH strongly.

[0152] Two sorts of test fluid was prepared like the example 1 of a trial so that it might become concentration (440 μg [ml] /and 44 $\mu\text{g}/\text{ml}$) about the ethyl-acetate extract (G) obtained in the example of trial 7 example 2. The same trial as the example 1 of a trial was performed using this test fluid. A result is shown in a table 9.

[0153]

[A table 19]

表 9

 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	23.02 ± 1.46
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	45.35 ± 2.23

[0154] It is clearer than this result the ethyl-acetate extract's (G)'s obtained in the example 2 to control the osteoclasts by PTH strongly.

[0155] Two sorts of test fluid was prepared like the example 1 of a trial so that it might become concentration (440 μg [ml] /and 44 $\mu\text{g}/\text{ml}$) about the butanol extract (H) obtained in the example of trial 8 example 2. The same trial as the example 1 of a trial was performed using this test fluid. A result is shown in a table 10.

[0156]

[A table 20]

表 10
 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 ($440 \mu\text{g}/\text{ml}$)	17.76 ± 0.79
PTH + 試験液 ($44 \mu\text{g}/\text{ml}$)	55.69 ± 7.22

[0157] It is clearer than this result the butanol extract's (H)'s obtained in the example 2 to control the osteoclasts by PTH strongly.

[0158] The example of a trial of the bioactive which used the ethyl-acetate extract (C) from *Cimicifuga foetida* L. and the ovariectomy animal of the ethyl-acetate extract (G) from *Cimicifuga heracleifolia* next is shown.

[0159] The ovary extract of the parity Wistar rats of age was carried out for example 98 months of a trial, and it divided into the ovariectomy group (group 1), (Extract C) administration group (group 2), and (Extract G) administration group (group 3). Moreover, one group (group 4) of false operation groups was created.

[0160] Groups 1 and 4 were medicated with distilled water, and groups 2 and 3 were medicated with an extract (C) and (G) for six weeks 100 mg/kg/day , respectively. The rat after administration termination was anesthetized and the average bone density from the 2nd to fourth lumbar vertebra was measured by dual-energy x-ray absorptiometry (DXA). A result is shown in a table 11.

[0161]

[A table 21]

表 11

グループ	1	2	3	4
平均骨密度 (g/cm^2)	0.1464 ± 0.0037 (7)	0.1602 ± 0.0029 (6) *	0.1612 ± 0.0031 (6) *	0.1752 ± 0.0062 (5) **

グループ 1 : 卵巣摘出群

n = 7

グループ 2 : 抽出物 (C) (100 mg/kg) 投与群

n = 6

グループ 3 : 抽出物 (G) (100 mg/kg) 投与群

n = 6

グループ 4 : 擬似手術群

n = 5

グループ 1 との差異に関する有意差 * $p < 0.02$ 、** $p < 0.01$

[0162] From this result, it was checked that the extract (C) from *Cimicifuga foetida* L. and the extract (G) from *Cimicifugaheracleifolia* control reduction in bone density clearly, and the usefulness as antiosteoporotic drug was shown.

[0163] The example of pharmaceutical preparation of the compound of example 3 this invention is shown. The tablet containing (Extract C) 50 mg from the ethyl acetate obtained per one lock and in the example 1 according to the following formula was prepared.

[0164]

** Part mg Extract (C) 50 Crystalline cellulose 50 Carboxymethyl-cellulose calcium 10 Sodium lauryl sulfate 1 Methyl cellulose 3 Calcium stearate The example of pharmaceutical preparation of the compound of 4 example 4 this invention is shown. The capsule was filled up with the 200 mg mixed component containing (Extract C) 50 mg from the ethyl acetate obtained per one lock and in the example 1 according to the following formula, and the capsule was prepared.

[0165]

** Part mg Extract (C) 50 Lactose 50 Corn starch 40 Crystalline cellulose 50 Calcium stearate Example

of 10 trials 10Cimicifugafoetida L. -- from -- the compounds 12, 13, 14, and 15 isolated from the compounds 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, and 11 isolated out of the ethyl-acetate extract, and Cimicifuga heracleifolia KOMAROV -- 16 And invitro drug effect of 19 was examined like the example 1 of a trial. Each compound was added using the concentration of 200microM and 20microM. A result is shown in a table 12.

[0166]

[A table 22]

表 12

化合物	45Ca放出量(%)			
	添加量		PTH ¹⁾	ブランク ²⁾
	200 μ M ³⁾	20 μ M ³⁾		
3	24.50 \pm 7.32****	37.27 \pm 1.72***	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
6	17.13 \pm 0.36****	62.78 \pm 1.24	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
4	29.22 \pm 1.46****	51.18 \pm 3.15	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
7	22.69 \pm 0.88****	52.98 \pm 2.93	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
8	47.24 \pm 1.62*	54.71 \pm 3.18	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
11	44.68 \pm 3.18*	47.38 \pm 4.75	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
2	53.21 \pm 1.26	60.08 \pm 1.39	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
9	41.99 \pm 3.15***	58.47 \pm 3.34	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
12	52.07 \pm 3.14	65.64 \pm 2.78	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
13	52.68 \pm 2.60	53.70 \pm 4.25	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
14	42.93 \pm 1.55***	64.58 \pm 6.65	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
15	32.20 \pm 4.68****	51.14 \pm 3.28	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
16	25.82 \pm 0.88****	36.09 \pm 2.49****	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
19	35.99 \pm 4.68***	40.28 \pm 3.28***	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02

1) PTH: PTH (2×10^{-9} M) のみ培養 (n = 14)

2) ブランク: 化合物のみ培養 (n = 14)

3) 化合物の評価は PTH (2×10^{-9} M) 存在下で実施 (n = 6~7)

4) PTH のみの数値との有意差 *p < 0.05、***p < 0.01、****p < 0.001

[0167] Even when these compounds are independent, it is clear from these results its to control the osteoclasia by PTH.

[0168]

[Effect of the Invention] By this invention, the bone disease therapy agent which makes a Cimicifugae rhizoma extract an active principle is obtained.

[0169] It is possible to treat osteoporosis, arthritis, the arthrosis, high calcium plasma, etc. effectively by the bone disease therapy agent of this invention.

[Translation done.]

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The bone disease therapy agent which contains a Cimicifugae rhizoma extract as an active principle.

[Claim 2] The bone disease therapy agent according to claim 1 said whose Cimicifugae rhizoma extract is a methanol extract obtained by extracting Cimicifugae rhizoma with a methanol.

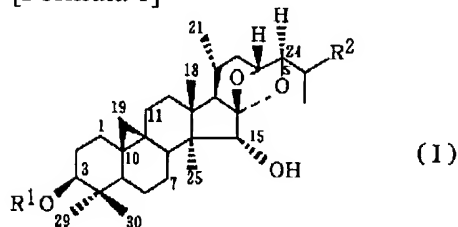
[Claim 3] The bone disease therapy agent according to claim 1 said whose Cimicifugae rhizoma extract is the hexane extractable material obtained by a methanol's extracting Cimicifugae rhizoma and extracting the residue obtained by the hexane further.

[Claim 4] The bone disease therapy agent according to claim 1 said whose Cimicifugae rhizoma extract is an ethyl-acetate extract obtained by a methanol's extracting Cimicifugae rhizoma and extracting the residue obtained with ethyl acetate further.

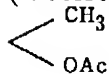
[Claim 5] The bone disease therapy agent according to claim 1 said whose Cimicifugae rhizoma extract is a butanol extract obtained by a methanol's extracting Cimicifugae rhizoma and extracting the residue obtained by the butanol further.

[Claim 6] Formula (I)

[Formula 1]



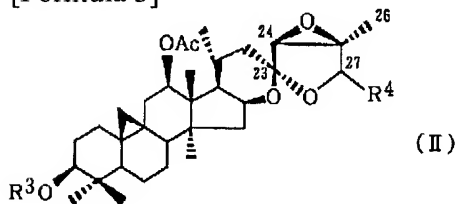
(It corrects, R1 is a beta-xylo sill, as for R2, =CH₂; or R1 is a beta-xylo sill, and R2 is [Formula 2].)



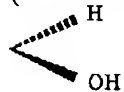
The bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed with *****.

[Claim 7] Formula (II)

[Formula 3]



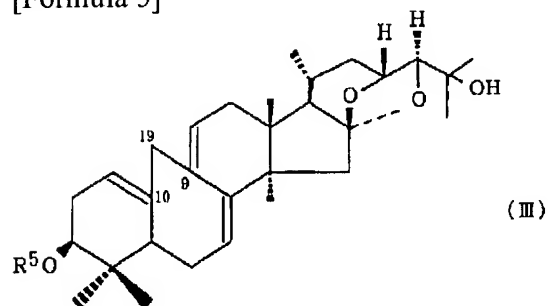
(However R3 being an arabino sill. R4 [Formula 4])



; R3 and R4 -- both -- hydrogen -- being shown -- the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed. [or]

[Claim 8] Formula (III)

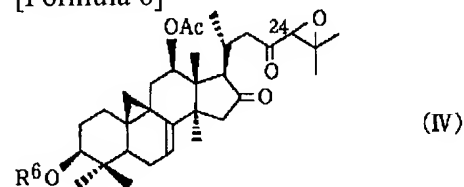
[Formula 5]



It is the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed with (however, R5 shows a beta-xylo sill).

[Claim 9] Formula (IV)

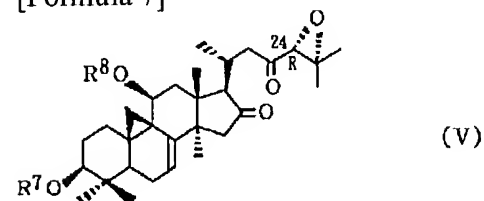
[Formula 6]



It is the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed with (however, R6 shows a beta-xylo sill).

[Claim 10] Formula (V)

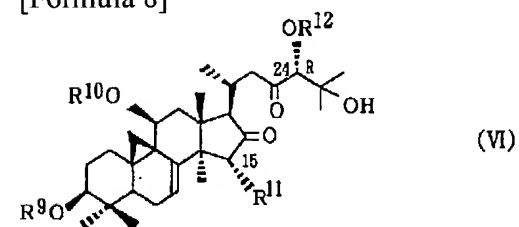
[Formula 7]



It is the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed with (however, R7 is a beta-xylo sill and R8 shows hydrogen, as for both hydrogen, and R7 and R8).

[Claim 11] Formula (VI)

[Formula 8]

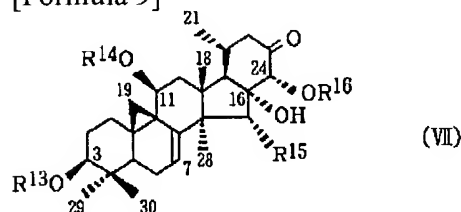


It is the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed

with (however, R9 is a beta-xylo sill, both a beta-xylo sill, and R10 and R12 are [R10, R11, and R12] hydrogen as for hydrogen; or R9, and R11 shows a hydroxyl group). [both]

[Claim 12] Formula (VII)

[Formula 9]



It is the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed with (however, hydrogen; R13 are a beta-xylo sill as for both R13, R14, R15, and R16, both a beta-xylo sill, and R14 and R16 are [R14, R15, and R16] hydrogen as for hydrogen; or R13, and R15 shows a hydroxyl group). [both]

[Claim 13] The bone disease therapy agent which makes NORUBISUNAJIN an active principle.

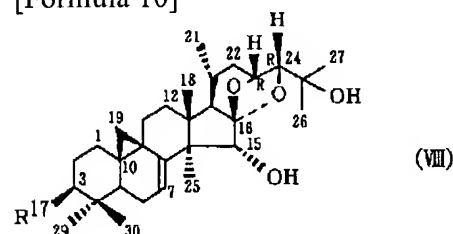
[Claim 14] The bone disease therapy agent which makes Angelica archangelica in an active principle.

[Claim 15] The bone disease therapy agent which makes an iso FERU rucksack acid an active principle.

[Claim 16] The bone disease therapy agent which makes iso impeller thorin an active principle.

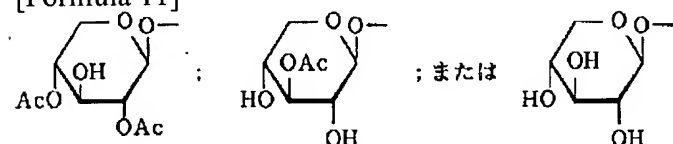
[Claim 17] Formula (VIII)

[Formula 10]



(However, R17 - OH;=O;)

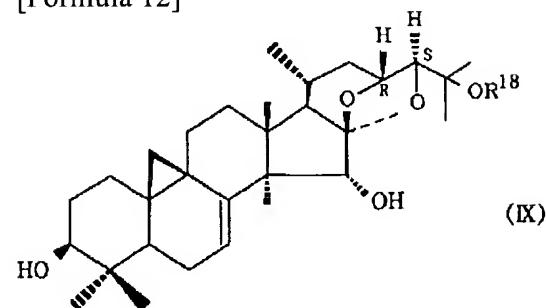
[Formula 11]



The bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed with

[Claim 18] Formula (IX)

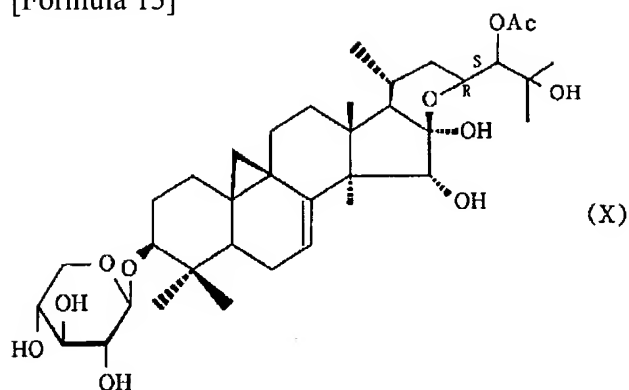
[Formula 12]



It is the bone disease therapy agent which makes an active principle the terpene compound expressed with (however, R18 shows acetyl, as for hydrogen; or R18).

[Claim 19] Formula (X)

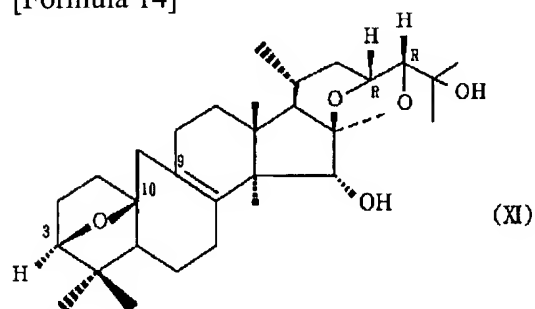
[Formula 13]



The bone disease therapy agent which comes out and makes an active principle the terpene compound expressed.

[Claim 20] Formula (XI)

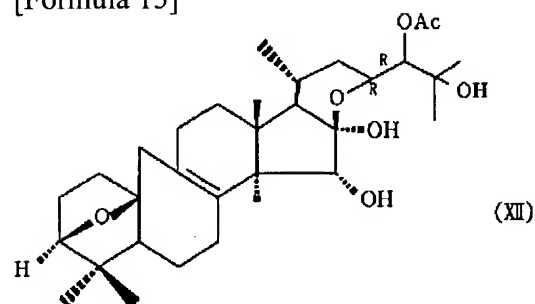
[Formula 14]



The bone disease therapy agent which comes out and makes an active principle the terpene compound expressed.

[Claim 21] Formula (XII)

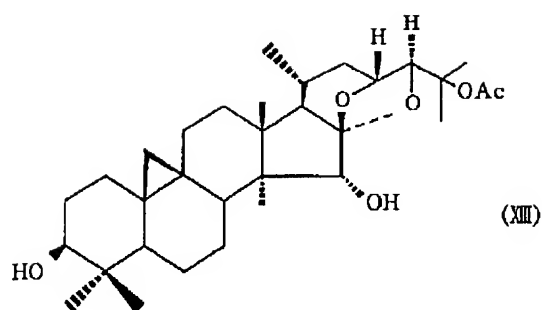
[Formula 15]



The bone disease therapy agent which comes out and makes an active principle the terpene compound expressed.

[Claim 22] Formula (XIII)

[Formula 16]



The bone disease therapy agent which comes out and makes an active principle the terpene compound expressed.

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-30977

(43) 公開日 平成9年(1997)2月4日

(51) Int.Cl. ⁹	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/70	A B J		A 6 1 K 31/70	A B J
31/58			31/58	
35/78			35/78	C
C 0 7 J 9/00			C 0 7 J 9/00	
17/00			17/00	

審査請求 未請求 請求項の数22 O L (全 27 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平7-184117	(71) 出願人	591168323 難波 恒雄 富山県富山市五福末広町2556-4 1-104
(22) 出願日	平成7年(1995)7月20日	(71) 出願人	595104507 門田 重利 富山市五福末広町2556-4-2-402
		(71) 出願人	000124269 科研製薬株式会社 東京都文京区本駒込2丁目28番8号
		(72) 発明者	難波 恒雄 富山市五福末広町2556-4-1-104
		(74) 代理人	弁理士 朝日奈 宗太 (外1名) 最終頁に続く

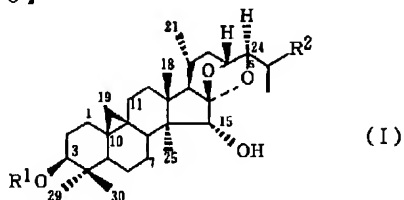
(54) 【発明の名称】 升麻抽出物を含有する骨疾患治療剤

(57) 【要約】

【課題】 升麻の根茎部分から、骨疾患治療に薬効を示し、かつ副作用の少ない有効成分を適切な溶媒を用いることにより、効率よく抽出して提供すること。

【解決手段】 式 (I)

【化56】



(ただし R¹ は β-キシロシルで、R² は =CH₂ ; または R¹ は β-キシロシルで R² は

【化57】



を示す) で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 升麻抽出物を有効成分として含有する骨疾患治療剤。

【請求項2】 前記升麻抽出物が、升麻をメタノールで抽出することにより得られるメタノール抽出物である請求項1記載の骨疾患治療剤。

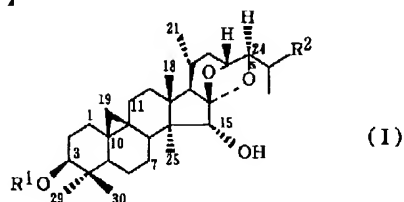
【請求項3】 前記升麻抽出物が、升麻をメタノールで抽出し、得られる残渣をさらにヘキサンで抽出することにより得られるヘキサン抽出物である請求項1記載の骨疾患治療剤。

【請求項4】 前記升麻抽出物が、升麻をメタノールで抽出し、得られる残渣をさらに酢酸エチルで抽出することにより得られる酢酸エチル抽出物である請求項1記載の骨疾患治療剤。

【請求項5】 前記升麻抽出物が、升麻をメタノールで抽出し、得られる残渣をさらにブタノールで抽出することにより得られるブタノール抽出物である請求項1記載の骨疾患治療剤。

【請求項6】 式(I)

【化1】



(ただしR¹はβ-キシロシルで、R²は=CH₂；またはR¹はβ-キシロシルで、R²は

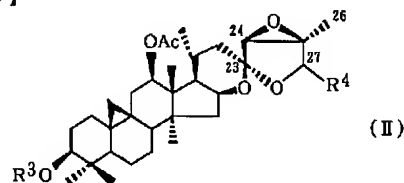
【化2】



を示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項7】 式(II)

【化3】



(ただしR³はアラビノシルで、R⁴は

【化4】

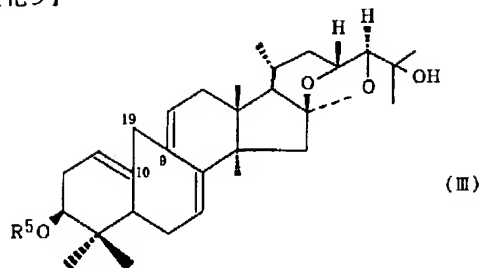


；またはR³およびR⁴は共に水素を示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項8】 式(III)

2

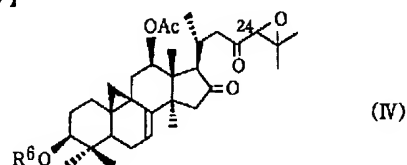
【化5】



10 (ただし、R⁵はβ-キシロシルを示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項9】 式(IV)

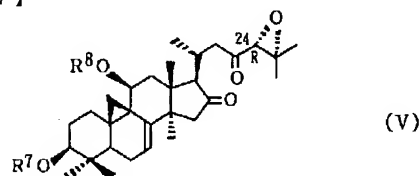
【化6】



20 (ただしR⁶はβ-キシロシルを示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項10】 式(V)

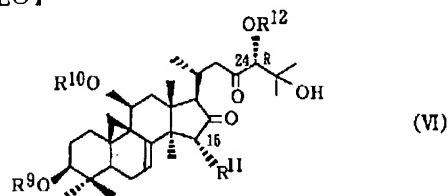
【化7】



30 (ただしR⁷はβ-キシロシルで、R⁸は水素；またはR⁷およびR⁸は共に水素を示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項11】 式(VI)

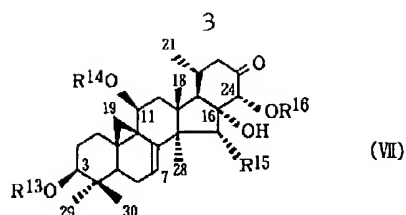
【化8】



40 (ただしR⁹はβ-キシロシルで、R¹⁰、R¹¹およびR¹²は共に水素；またはR⁹はβ-キシロシル、R¹⁰およびR¹²は共に水素で、R¹¹は水酸基を示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項12】 式(VII)

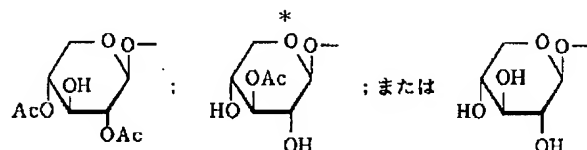
【化9】



(ただしR¹³、R¹⁴、R¹⁵およびR¹⁶は共に水素；R¹³はβ-キシロシルで、R¹⁴、R¹⁵およびR¹⁶は共に水素；またはR¹³はβ-キシロシル、R¹⁴およびR¹⁶は共に水素で、R¹⁵は水酸基を示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項13】 ノルビスナジンを有効成分とする骨疾患治療剤。

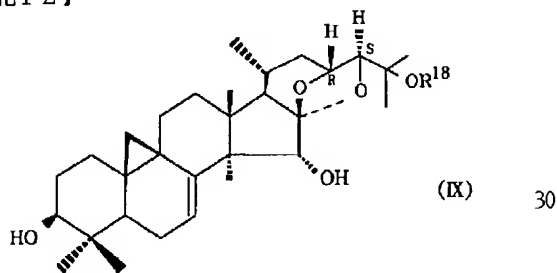
【請求項14】 アンゲリカインを有効成分とする骨疾患治療剤。



を示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項18】 式(IX)

【化12】

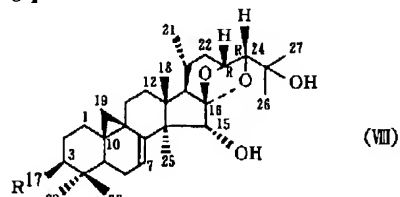


4
*【請求項15】 イソフェルリク酸を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項16】 イソインペラトリンを有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項17】 式(VIII)

【化10】



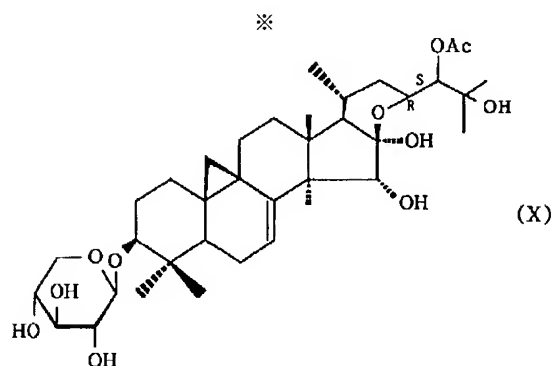
(ただしR¹⁷は-OH；=O；

【化11】

※(ただしR¹⁸は水素；またはR¹⁸はアセチルを示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項19】 式(X)

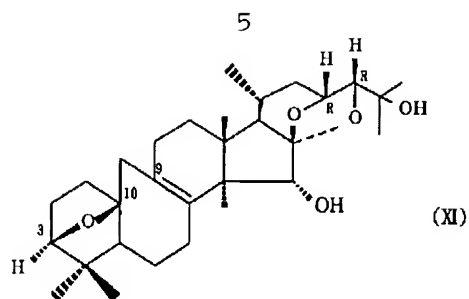
【化13】



で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤。

【請求項20】 式(XI)

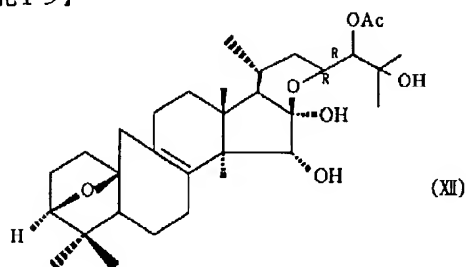
【化14】



で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療 10
剤。

【請求項21】 式(XII)

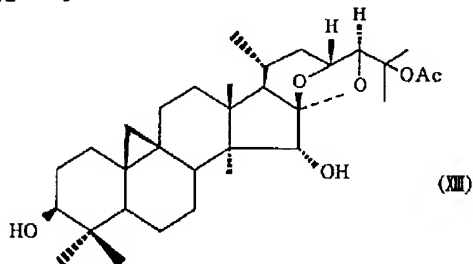
【化15】



で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療
剤。

【請求項22】 式(XIII)

【化16】



で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療
剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、升麻抽出物を有効成分として含有する骨疾患治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】升麻は古くから抗菌作用、循環器系作用、鎮静作用、抗炎症作用、解熱作用などを示すことが知られている。中国では抗炎症薬、鎮痛薬として単独または他の生薬とともに用いられている。

【0003】本発明の目的は、適切な溶媒を用いることにより、升麻の根茎から骨疾患治療作用を有する有効成分を効率よく抽出することである。

【0004】本発明の他の目的は、骨疾患治療に薬効を示し、かつ副作用の少ない升麻抽出物を得、副作用の少 50

6

ない骨疾患治療剤を提供することである。

【0005】

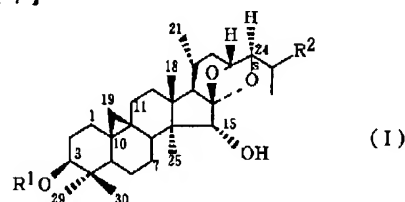
【課題を解決するための手段】本発明者らは、適切な溶媒を用いて分画を行うことにより、これまで升麻の薬効として知られていなかった骨疾患治療作用を強く示すテルペン化合物を升麻から抽出しうることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0006】本発明は、升麻抽出物を有効成分として含有する骨疾患治療剤に関する。とりわけ、前記升麻抽出物が、升麻をメタノールで抽出することにより得られるメタノール抽出物であるもの、前記升麻抽出物が、升麻をメタノールで抽出し、得られる残渣をさらにヘキサンで抽出することにより得られるヘキサン抽出物であるもの、前記升麻抽出物が、升麻をメタノールで抽出し、得られる残渣をさらに酢酸エチルで抽出することにより得られる酢酸エチル抽出物であるものおよび前記升麻抽出物が、升麻をメタノールで抽出し、得られる残渣をさらにブタノールで抽出することにより得られるブタノール抽出物であるものが好ましい。メタノールによる抽出は加熱下で行うことが好ましい。

【0007】また本発明は、式(I)

【0008】

【化17】



30 【0009】(ただしR¹はβ-キシロシルで、R²は=CH₂;またはR¹はβ-キシロシルで、R²は

【0010】

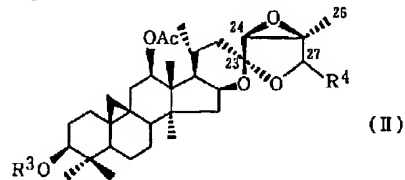
【化18】



【0011】を示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤、式(II)

【0012】

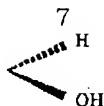
40 【化19】



【0013】(ただしR³はアラビノシルで、R⁴は

【0014】

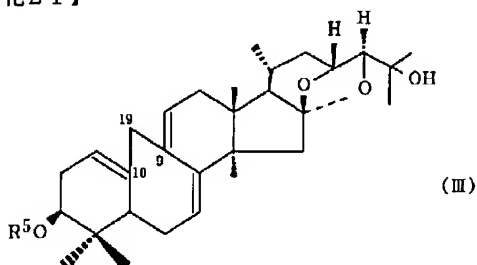
【化20】



【0015】；またはR³およびR⁴は共に水素を示す)
で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療
剤、式(III)

【0016】

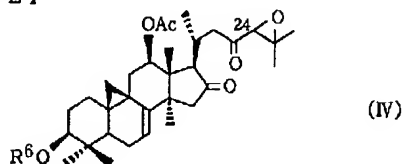
【化21】



【0017】(ただし、R⁵はβ-キシロシルを示す)
で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療
剤、式(IV)

【0018】

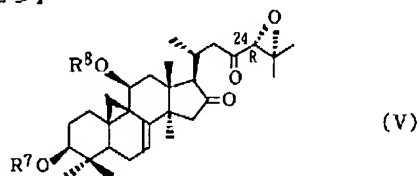
【化22】



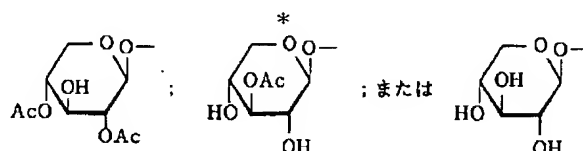
【0019】(ただしR⁶はβ-キシロシルを示す)で
表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療
剤、式(V)

【0020】

【化23】



【0021】(ただしR⁷はβ-キシロシルで、R⁸は水
素；またはR⁷およびR⁸は共に水素を示す)で表される
テルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤、式(V
I)



【0029】を示す)で表されるテルペン化合物を有効
成分とする骨疾患治療剤、式(IX)

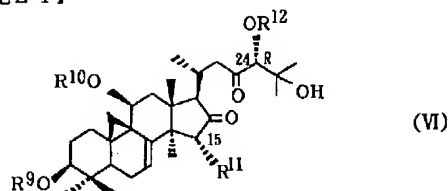
【0030】

※50

8

*【0022】

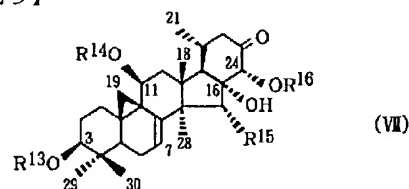
【化24】



【0023】(ただしR⁹はβ-キシロシルで、R¹⁰、
R¹¹およびR¹²は共に水素；またはR⁹はβ-キシロシ
ル、R¹⁰およびR¹²は共に水素で、R¹¹は水酸基を示
す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患
治療剤、式(VII)

【0024】

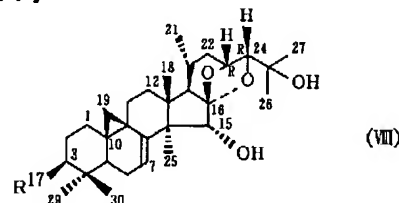
【化25】



【0025】(ただしR¹³、R¹⁴、R¹⁵およびR¹⁶は共
に水素；R¹³はβ-キシロシルで、R¹⁴、R¹⁵およびR¹⁶
は共に水素；またはR¹³はβ-キシロシル、R¹⁴およ
びR¹⁶は共に水素で、R¹⁵は水酸基を示す)で表される
テルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤、ノルビ
スナジンを有効成分とする骨疾患治療剤、アングリカ
インを有効成分とする骨疾患治療剤、イソフェルリッ
ク酸を有効成分とする骨疾患治療剤、イソインペラト
リンを有効成分とする骨疾患治療剤、式(VIII)

【0026】

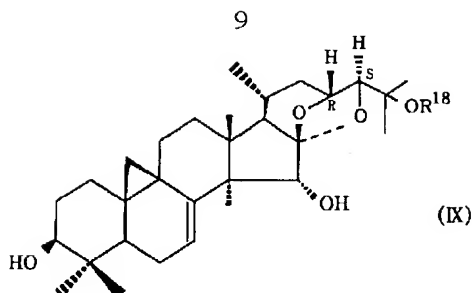
【化26】



【0027】(ただしR¹⁷は-OH；=O；

【0028】

【化27】

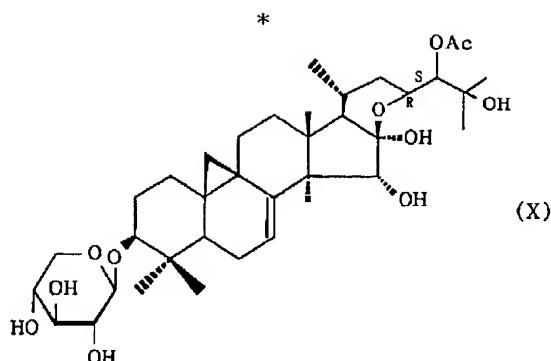


10

*【0031】(ただしR¹⁸は水素;またはR¹⁸はアセチルを示す)で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤、式(X)

【0032】

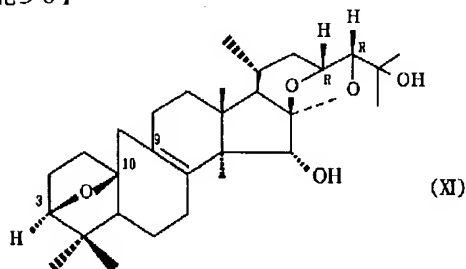
【化29】



【0033】で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤、式(XI)

【0034】

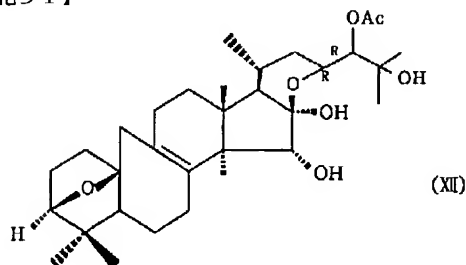
【化30】



【0035】で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤、式(XII)

【0036】

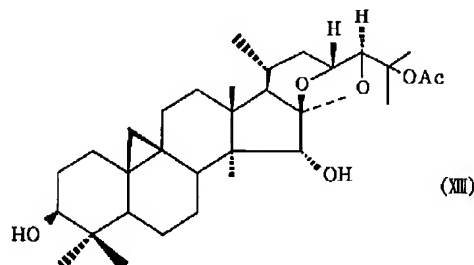
【化31】



【0037】で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤および式(XIII)

【0038】

【化32】



30 【0039】で表されるテルペン化合物を有効成分とする骨疾患治療剤に関する。

【0040】

【発明の実施の形態】本発明に用いる升麻は、西升麻(*Cimicifuga foetida* L.、以下*Cimicifuga foetida* L.と記す)、関升麻(*Cimicifuga heracleifolia* KOMAROV、以下、*Cimicifuga heracleifolia* KOMAROVと記す)、北升麻(*Cimicifuga dahurica* (TURCZ.) MAXIM)およびサラシナ升麻(*Cimicifuga simplex* WORMSKARL)などの根茎であればいずれのものでもよい。とくに中国、四川省における*Cimicifuga foetida* L.および中国、東北三省(黒龍江省、吉林省および遼寧省)における*Cimicifuga heracleifolia* KOMAROVが好ましい。

【0041】本発明の有効成分として用いる升麻抽出物は、つぎのようにして製造することができる。

【0042】まず、前記升麻の根茎を粉末にし、第1の溶媒を加えて抽出し、抽出液から溶媒を留去した残渣に第2の溶媒を加えて可溶部を抽出する。

※ 【0043】前記第1の溶媒の具体例としては、たとえばメタノール、エタノールなどがあげられるが、メタノールが好ましい。

11

【0044】前記第2の溶媒の具体例としては、たとえばヘキサン、酢酸エチル、ブタノールなどがあげられる。とくに好ましくは酢酸エチルである。

【0045】本発明の有効成分として用いるメタノール抽出物とは、第1の溶媒としてメタノールを使用して抽出することにより得られる抽出物のことである。

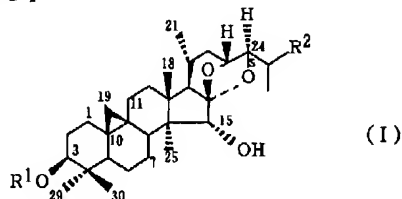
【0046】本発明の有効成分として用いるヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物またはブタノール抽出物とは、第1の溶媒としてメタノールを使用し、第2の溶媒としてそれぞれヘキサン、酢酸エチルまたはブタノールを使用して抽出することにより得られる各抽出物のことである。

【0047】本発明の有効成分として用いるテルペン化合物は、前記ヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物またはブタノール抽出物を、常法にしたがい、精製、分取のためのカラムクロマトグラフィーに付すことにより得られる。

【0048】前記テルペン化合物の具体例としては、たとえば式(I)

【0049】

【化33】



【0050】(ただしR¹はβ-キシロシルで、R²は=CH₂;またはR¹はβ-キシロシルで、R²は

【0051】

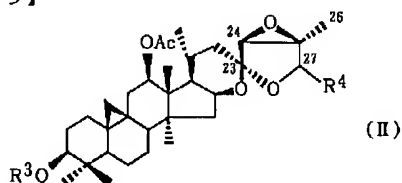
【化34】



【0052】を示す)で表されるテルペン化合物、式(I I)

【0053】

【化35】



【0054】(ただしR³はアラビノシルで、R⁴は

【0055】

【化36】

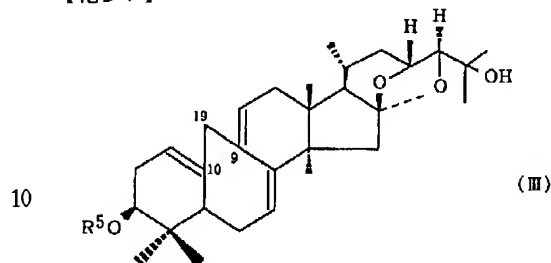


12

【0056】;またはR³およびR⁴は共に水素を示す)で表されるテルペン化合物、式(I I I)

【0057】

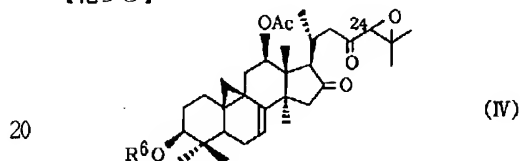
【化37】



【0058】(ただし、R⁵はβ-キシロシルを示す)で表されるテルペン化合物、式(I V)

【0059】

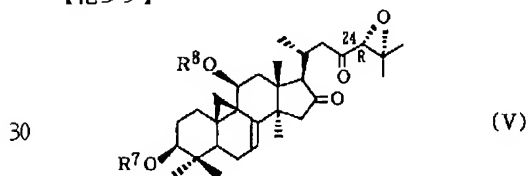
【化38】



【0060】(ただしR⁶はβ-キシロシルを示す)で表されるテルペン化合物、式(V)

【0061】

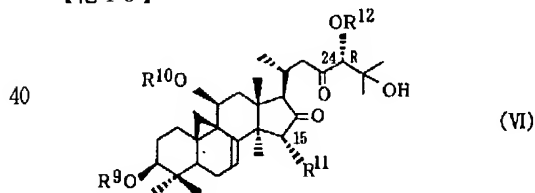
【化39】



【0062】(ただしR⁷はβ-キシロシルで、R⁸は水素;またはR⁷およびR⁸は共に水素を示す)で表されるテルペン化合物、式(V I)

【0063】

【化40】

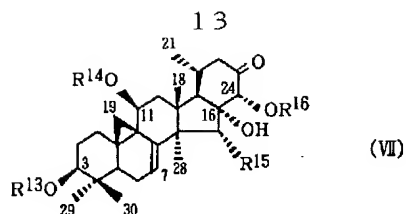


【0064】(ただしR⁹はβ-キシロシルで、R¹⁰、R¹¹およびR¹²は共に水素;またはR⁹はβ-キシロシル、R¹⁰およびR¹²は共に水素で、R¹¹は水酸基を示す)で表されるテルペン化合物、式(V I I)

【0065】

【化41】

50

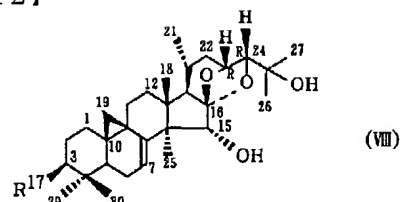


【0066】(ただしR¹³、R¹⁴、R¹⁵およびR¹⁶は共に水素；R¹³はβ-キシロシルで、R¹⁴、R¹⁵およびR¹⁶は共に水素；またはR¹³はβ-キシロシル、R¹⁴およびR¹⁶は共に水素で、R¹⁵は水酸基を示す)で表される

* I)

【0067】

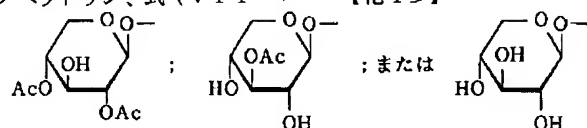
【化42】



【0068】(ただしR¹⁷は-OH；=O；

【0069】

【化43】



【0070】を示す)で表されるテルペン化合物、式

(IX)

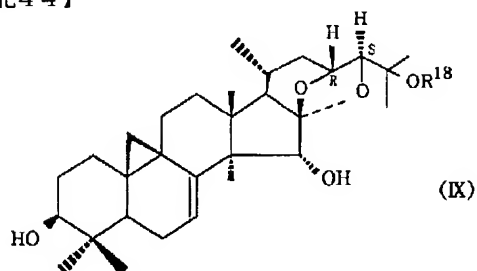
【0071】

【化44】

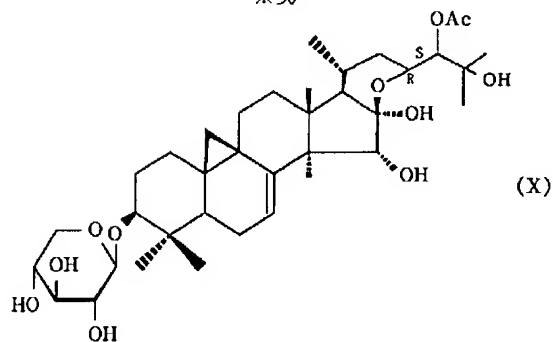
※【0072】(ただしR¹⁸は水素；またはR¹⁸はアセチルを示す)で表されるテルペン化合物、式(X)

20 【0073】

【化45】



※30



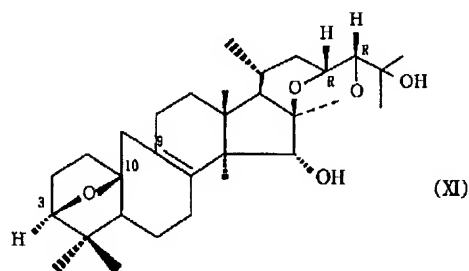
【0074】で表されるテルペン化合物、式(XI)

【0075】

【化46】

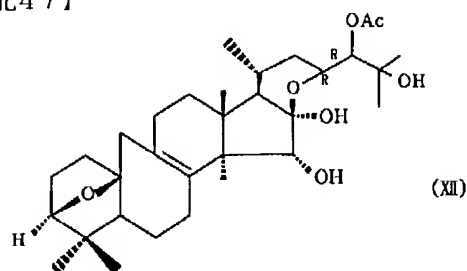
★

★

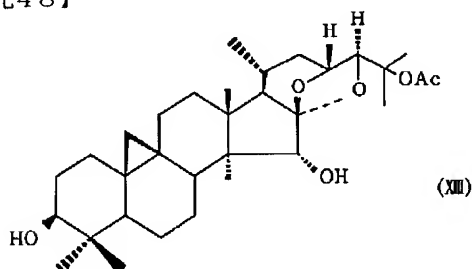


15

【0076】で表されるテルペン化合物、式(XII)
 【0077】
 【化47】



【0078】で表されるテルペン化合物および式(XI I)
 【0079】
 【化48】



【0080】で表されるテルペン化合物などがあげられる。

【0081】前記テルペン化合物は、常法にしたがって、アセチル化されたアセチル体も含む。

【0082】本発明の骨疾患治療剤は、升麻抽出物を有効成分として含有するばあい、成人経口投与量として0.1~5g/kg、好ましくは0.1~3g/kgで投与し、各テルペン化合物を有効成分として含有するばあい、成人経口投与量として0.01~0.5g/kg、好ましくは0.01~0.3g/kgで投与する。

【0083】本発明の骨疾患治療剤(升麻抽出物を有効成分とするばあい)をラットに経口投与するばあいのLD₅₀値は、2000mg/kg以上である。

【0084】本発明の骨疾患治療剤は、経口投与で充分に活性を示し、製剤としては、たとえば錠剤、カプセル剤、エキス剤、散剤、顆粒剤、液剤などとして使用できる。

【0085】本発明の骨疾患治療剤を製剤するにあたっては、とくに制限はなく、通常用いられるキャリアーを用い常法にしたがって行なえばよい。

【0086】本発明の骨疾患治療剤は、副甲状腺ホルモン(以下、PTHと略す)による骨吸収を抑制し、また骨密度の減少も抑制するというすぐれた骨疾患治療作用を有する。また、本発明の骨疾患治療剤は現在、治療に用いられているカルシトニン、ビタミンD₃、ビスホスホネートとは異なる天然物生薬であり、緩やかな薬効を示し、かつ副作用がないため、長期にわたる薬剤の連続

16

投与が可能になることが見出された。

【0087】本発明の骨疾患治療剤の好ましい適応症としては、たとえば骨粗鬆症、関節炎、関節症、高カルシウム血症などがあげられる。

【0088】本発明における有効成分である抽出物はその成分の種類、混合比率が骨疾患治療剤として、薬効を示す上で好ましい状態にある。

【0089】以下に実施例をあげて本発明の骨疾患治療剤を説明するが、本発明はかかる実施例のみに限定されるものではない。

【0090】実施例1

(a) 1993年7月に中国四川省において採取された *Cimicifuga foetida* L. の風乾した根茎(4kg)を粉末にし、メタノール(10リットル)を加え、3時間加熱還流した。この抽出を3回繰り返して、得られたメタノール抽出液からメタノールを留去してメタノール抽出物600g(A)を得た。この残渣に水(1000ml)を加えて懸濁液とし、n-ヘキサン(1000ml)を加えて激しく攪拌してn-ヘキサン層を分離し、n-ヘキサン抽出液を得た。この操作を3回繰り返して抽出した。残りの懸濁液から同様にして酢酸エチル抽出液、n-ブタノール抽出液を得た。それらの抽出液からそれぞれ溶媒を留去して、n-ヘキサン抽出液から130g(B)、酢酸エチル抽出液から236g(C)、n-ブタノール抽出液から50g(D)の抽出物を得た。

【0091】つぎにこれらの抽出物を、クロロホルム-メタノール(7:3、v/v)(ただし、ヘキサン抽出物のばあいは、クロロホルム-メタノール(9:1、v/v))を用いて、薄層クロマトグラフィーにより分画し、発色試薬(10%Ce(SO₄)₂硫酸水溶液)を用いて発色させた。

【0092】図1に、メタノール、n-ヘキサン、酢酸エチルおよびn-ブタノール抽出物の薄層クロマトグラフィーのパターンを示す。

【0093】(b) 前記(a)で得られた酢酸エチル抽出物(C)(200g)を、シリカゲル(1.8kg)を用いたカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルムおよびクロロホルム-メタノール(19:1、4:1、7:3および6:4、v/v)で順次溶出し、以下のI~VIIの7画分、すなわち画分I(1.5g)、画分II(1.0g)、画分III(12.0g)、画分IV(36.0g)、画分V(43.0g)、画分VI(19.0g)および画分VII(15.0g)を得た。

【0094】(c) 前記(b)で得られた画分III(12.0g)を活性炭カラムに付し、酢酸エチルおよびn-ヘキサン-酢酸エチル(7:3,3:2および1:1、v/v)で順次展開して、以下の物性恒数を有するテルペン化合物1(100mg)を得た。

【0095】化合物1の物性恒数

mp: 197~198°C

$[\alpha]_D^{25}$: -50.58° (c=0.16, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)

17

EI-MS: m/z 484, 468

高分解能マスペクトルで $C_{30}H_{44}O_6$ の組成であることを確認した。

IR: 3450, 1720, 1700, 1440, 1380 cm^{-1}

(d) 前記(b)で得られた画分IV(36.0g)をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、ヘキサン-酢酸エチル-メタノール(1:1:0.01および1:1:0.05, v/v)で順次展開し、さらに画分IV-1(8.0g)、画分IV-2(2.5g)、画分画分IV-3(1.5g)、画分IV-4(4.0g)および画分IV-5(15.0g)に分画した。

【0096】得られた画分IV-2(2.5g)を、さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン-酢酸エチル-MeOH=1:1:0.01, v/v)で精製して、以下の物性恒数を有するテルペン化合物2(25mg)と3(30mg)を得た。

【0097】化合物2の物性恒数

mp: 255~256°C

[α]_D: -93.50° (c=0.12, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)

EI-MS: m/z 444, 438

元素分析: C₂₇H₄₀O₆ 計算値: C, 72.94, H, 9.07,

実測値: C, 73.18, H, 8.79

IR: 3450, 1718, 1620 cm^{-1}

化合物3の物性恒数

mp: 245~246°C

[α]_D: +8.42° (c=0.14, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)ポジティブイオンFAB-MS: m/z 603[M+H]⁺

高分解能マスペクトルで $C_{35}H_{50}O_8$ の組成であることを確認した。

IR: 3400, 1400 cm^{-1}

(e) 前記(d)で得られた画分IV-4(4.0g)をシリカゲルカラムに付し、ヘキサン-酢酸エチル-メタノール(1:1:0.05, v/v)で展開し、以下の物性恒数を有するテルペン化合物4(20mg)、5a(25mg)および6(3.0g)を得た。

【0098】化合物4の物性恒数

mp: 157~158°C

[α]_D: +14.02° (c=0.30, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)ポジティブイオンFAB-MS: m/z 601[M+H]⁺

高分解能マスペクトルで $C_{35}H_{50}O_8$ の組成であることを確認した。

IR: 3420, 2960, 2920, 1620, 1380, 1040 cm^{-1}

化合物5aの物性恒数

mp: 234~235°C

[α]_D: -99.33° (c=0.30, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)ポジティブイオンFAB-MS: m/z 659[M+H]⁺

高分解能マスペクトルで $C_{37}H_{50}O_{10}$ の組成であることを確認した。

IR: 3420, 2950, 1740, 1720 cm^{-1}

化合物6の物性恒数

mp: 182~183°C

[α]_D: -66.06° (c=0.30, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)

18

ポジティブイオンFAB-MS: m/z 677[M+H]⁺

高分解能マスペクトルで $C_{37}H_{50}O_{11}$ の組成であることを確認した。

IR: 3420, 2960, 2920, 1740 cm^{-1}

(f) 前記(e)で得られた化合物5a(10mg)を、乾燥させたピリジン(1ml)に溶解し、無水酢酸(0.5ml)を加え、25~27°Cで12時間撹拌した。減圧下、40°Cでこの反応液から溶媒を留去し、得られた残渣を分取用薄層クロマトグラフィーに付し、クロロホルムを用いて展開することにより、生成したアセチル体(化合物5b)を精製、分取した。

【0099】(g) 前記(b)で得られた画分V(43.0g)を、クロロホルム-メタノール(7:3, v/v)で繰り返して再結晶化し、以下の物性恒数を有するテルペン化合物7a(2.0g)を得た。

【0100】化合物7aの物性恒数

mp: 214~215°C

[α]_D: -42.32° (c=0.20, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)ネガティブイオンFAB-MS: m/z 615[M-H]⁻

20 高分解能マスペクトルで $C_{35}H_{50}O_9$ の組成であることを確認した。

IR: 3450, 2960, 2925, 2850, 1720, 1380, 1040 cm^{-1}

(h) 前記(f)と同様にして、前記(g)で得られた化合物7aのアセチル化を行ない、化合物7bを得た。

【0101】(i) 前記(b)で得られた画分VI(19.0g)をコスモシル(Cosmosil) 140 C₁₈(株)ナカライテスク製、85.0g)を充填したカラムクロマトグラフィーに付し、メタノール-水(1:1および7:3, v/v)で順次展開し、最初の溶出画分から以下の物性恒数を有するテルペン化合物8a(1.5g)を得た。後の溶出画分をさらにコスモシル 140 C₁₈(50.0g)を充填したカラムクロマトグラフィーに付し、メタノール-水(1:1および7:3, v/v)で展開し、以下の物性恒数を有するテルペン化合物9(3mg)および10(5mg)を得た。

【0102】化合物8aの物性恒数

mp: 171~172°C

[α]_D: -30.73° (c=0.60, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)ポジティブイオンFAB-MS: m/z 635[M+H]⁺

40 高分解能マスペクトルで $C_{35}H_{50}O_{10}$ の組成であることを確認した。

IR: 3400, 2950, 2900, 1720, 1040 cm^{-1}

化合物9の物性恒数

mp: 212~213.5°C

[α]_D: -43.46° (c=0.27, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)ポジティブイオンFAB-MS: m/z 577[M+H]⁺

高分解能マスペクトルで $C_{32}H_{48}O_9$ の組成であることを確認した。

IR: 3400, 2900, 2850, 1720, 1040 cm^{-1}

化合物10の物性恒数

50 mp: 164~165°C

19

[α]_D: -73.64° (c=0.36, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)ポジティブイオンFAB-MS: m/z 593[M+H]⁺高分解能マスペクトルでC₃₂H₄₉O₁₀の組成であることを確認した。IR: 3400、2900、2850、1720、1040cm⁻¹

(j) 前記(f)と同様にして、前記(i)で得られた化合物8aのアセチル化を行ない、化合物8bを得た。

【0103】(k) 前記(b)得られた画分VII(10.0g)を活性炭カラムに付し、メタノールで溶出させ、その溶出画分をさらにコスモシル 140 C₁₈を充填したカラムクロマトグラフィーに付し、メタノール-水(1:1および7:3, v/v)で順次展開して、以下の物性恒数を有するテルペン化合物11(20mg)を得た。

20

* 【0104】化合物11の物性恒数

mp:134~135°C

[α]_D: -45.70° (c=0.38, CHCl₃:MeOH=1:1, v/v)ポジティブイオンFAB-MS: m/z 651[M+H]⁺高分解能マスペクトルでC₃₅H₅₇O₁₁の組成であることを確認した。IR: 3400、2950、2900、1720、1040cm⁻¹

各化合物1~11の¹H-NMRデータを、それぞれ化合物1~4は表1-1および1-2、化合物5~8は表1-3および1-4、化合物9~11は表1-5および1-6に示す。

【0105】

【表1】

表 1 - 1

化合物番号 ¹ H	1	2	3	4
1	1.68td(12.5, 5.5) 2.76dt(12.5, 3.5)	1.73td(12.5, 6.5) 2.76dt(12.5, 3.5)	1.25m 1.61m	5.52brd(5.0) —
2	2.23m —	2.06m —	1.97m 2.37m	2.35m 2.77dt(17.5, 5.0)
3	3.60dd(10.0, 5.5)	3.63dd(10.0, 5.5)	3.57dd(11.5, 4.5)	3.65m
5	1.33dd(12.5, 6.5)	1.38dd(12.5, 5.5)	1.37dd(12.5, 4.5)	2.38m
6	1.77ddd(17.5, 12.5, 2.0) 2.00m	1.85ddd(16.0, 12.5, 2.0) 2.01ddd(16.0, 7.5, 5.5)	0.74qd(12.5, 1.5) 1.58td(7.0, 1.5)	2.62dt(14.5, 5.0) 2.39m
7	5.17dd(7.5, 2.0) —	5.25dd(7.5, 2.0) —	2.09m 1.10qd(7.0, 1.5)	5.58brd(7.5) —
8	—	—	1.68m	—
11 α	4.54dd(9.5, 3.5)	4.62ddd(9.0, 5.5, 3.5)	2.14m	5.39brd(5.5)
11 β	—	6.01d(5.5, -OH)	1.21m	—
12 α	2.82dd(14.0, 9.5)	2.87dd(13.5, 9.0)	1.71m	1.95dd(17.5, 5.5)
12 β	2.19dd(14.5, 3.5)	2.09dd(13.5, 3.5)	1.55m	2.25brd(17.5)
15 α	2.30d(18.0)	2.27d(13.5)	—	2.05d(13.0)
15 β	2.50d(18.0)	2.56d(13.5)	4.28brs	2.32d(13.0)
16	—	—	—	—
17	2.38d(9.0)	2.26d(10.0)	1.46d(11.0)	1.55d(10.5)
18-H ₃	1.23s	1.29s	1.16s	0.77s
19	0.98d(4.0) 1.96d(4.0)	1.08d(4.0) 2.04d(4.0)	0.30d(4.0) 0.55d(4.0)	3.15d(14.0) 3.21d(14.0)
20	2.59m	2.19m	1.66m	1.60m

【0106】

※ ※【表2】

表 1 - 2

21-H ₃	1.04d(6.5)	0.93d(5.5)	0.86d(7.0)	0.83d(6.0)
22	2.63dd(15.5, 8.0) 3.61dd(15.5, 9.5)	2.42dd(18.5, 4.0) 2.52dd(18.5, 12.0)	1.00brt(12.5) 2.26ddd(12.5, 9.5, 7.5)	0.99m 2.23m 4.74brd(9.5)
23	—	—	4.30brd(7.5)	3.67brs
24	3.72s	4.50s	4.17brs	1.51s
26	—	—	4.88brs	—
26-H ₃	1.37s	—	5.33brs	—
27	—	—	—	—
27	—	—	1.84s	1.443s
27-H ₃	1.35s	—	—	—
28-H ₃	1.21s	1.62s	1.18s	1.29s
29-H ₃	1.28s	1.30s	1.33s	1.437s
30-H ₃	1.18s	1.21s	1.08s	0.94s
1	—	—	4.86d(7.5)	4.75d(7.5)
2	—	—	4.02t(7.5)	3.97t(7.5)
2'-OH	—	—	—	—
3	—	—	4.15t(8.5)	4.10t(8.5)
4	—	—	4.22ddd(11.0, 8.5, 5.0)	4.18ddd(11.0, 8.5, 5.0)
5	—	—	3.73t(11.0)	3.68t(11.0)
COCH ₃	—	—	4.34dd(11.0, 5.0)	4.32dd(11.0, 5.0)

【0107】

20【表3】

表 1 - 3

化合物番号 1H	5	6	7	8
1	1.21m 1.63td(12.5, 4.0)	1.11m 1.48m	1.62td(13.5, 5.5) 2.66dt(13.5, 3.5)	1.68m 2.76m
2	1.94m 2.29m	1.51m 1.81m	1.96dt(13.5, 3.5) 2.27m	2.08qd(12.5, 4.0) 2.41m
3	3.46dd(11.5, 4.0)	3.06dd(13.0, 4.5)	3.48dd(11.5, 3.0)	3.59dd(11.5, 3.0)
5	1.25m	1.23dd(11.0, 4.5)	1.30m	1.34dd(12.5, 5.5)
6	1.55m 1.86ddd(12.5, 7.5, 5.0)	0.82m 1.51m	1.68brt(12.5) 1.92m	1.73m 1.93m
7	5.08dd(7.5, 2.0)	1.28brt(13.0) 1.71dd(13.0, 3.5)	5.12dd(7.5, 2.0)	5.13dd(7.5, 2.0)
8	—	1.58m	—	—
11 _α	2.88dd(16.0, 9.0)	2.48m	4.46dd(9.5, 3.5)	4.53dd(9.0, 3.5)
11 _β	1.30m	0.99m	—	—
12 _α	5.60dd(9.0, 1.5)	4.74dd(9.0, 3.5)	2.76dd(14.5, 9.5)	2.77dd(13.5, 9.0)
12 _β	—	—	2.12dd(14.5, 3.5)	2.20dd(13.5, 3.5)
15 _α	2.32d(17.5)	1.44m	2.25d(18.0)	2.26d(18.0)
15 _β	2.60d(17.5)	1.79m	2.44d(18.0)	2.47d(18.0)
16	—	4.26td(8.0, 7.0)	—	—
17	2.71d(2.5)	1.69t(8.0)	2.33d(9.0)	2.42d(9.0)
18-H ₃	1.36s	1.13s	1.17s	1.22s
19	0.60d(4.0) 1.09d(4.0)	0.33d(4.5) 0.60d(4.5)	0.91d(4.0) 1.87d(4.0)	0.95d(4.0) 1.95d(4.0)
20	2.81m	1.59m	2.51m	2.74m

【0108】

※ ※【表4】

表 1 - 4

21-H ₃	1.22d(7.0)	0.87d(6.0)	1.00d(6.0)	1.13d(6.5)
22	2.92dd(18.0, 4.0) 3.00dd(18.0, 8.0)	0.94m 1.32m	2.59dd(16.5, 9.5) 3.55dd(16.5, 7.0)	3.43dd(18.0, 9.0) 3.85dd(18.0, 3.0)
23	—	—	—	—
24	3.67s	3.53s	3.66d(0.5)	4.49s
26	—	—	—	—
26-H ₃	1.29s	1.43s	1.37s	1.66s
27	—	4.99d(5.5) 6.40d(5.5, -OH)	—	—
27-H ₃	1.33s	—	1.31s	1.54s
28-H ₃	1.20s	0.84s	1.17s	1.16s
29-H ₃	1.33s	0.96s	1.33s	1.41s
30-H ₃	1.03s	0.77s	1.07s	1.15s
1	4.82d(7.5)	4.12d(7.5)	4.74d(7.5)	4.87d(7.5)
2	4.01t(7.5)	2.95td(8.5, 5.0)	3.87t(7.5)	4.03t(7.5)
2'-OH	—	4.90d(5.0)	—	—
3	4.13t(8.5)	3.05m	4.00t(8.5)	4.15t(8.5)
4	4.21ddd(10.0, 8.5, 5.0)	3.24m	4.06m	4.21ddd(10.0, 8.5, 5.0)
5	3.71dd(11.0, 10.0)	3.00t(11.0)	3.61t(11.0)	3.73dd(11.0, 10.0)
	4.34dd(11.0, 5.0)	3.64dd(11.0, 5.5)	4.23dd(11.0, 4.5)	4.34dd(11.0, 5.0)
COCH ₃	2.26s	1.96s	—	—

【0109】

* 20 * 【表5】

表 1 - 5

化合物番号 1H	9	10	11
1	1.73m 2.75dt(12.0, 3.5)	1.73td(12.5, 6.0) 2.77dt(12.5, 3.5)	1.68m 2.81m
2	2.10m 2.41m	2.13m 2.42m	2.05m 2.39m
3	3.59dd(11.5, 3.5)	3.61dd(11.0, 4.0)	3.58dd(11.5, 3.5)
5	1.35dd(12.0, 5.5)	1.44dd(12.0, 5.5)	1.34m
6	1.77ddd(16.0, 12.5, 2.0) 1.95ddd(16.0, 7.5, 5.5)	1.81ddd(16.0, 12.0, 2.0) 2.10m	1.73m 2.03m
7	5.22dd(7.5, 2.0)	6.23dd(7.5, 2.0)	6.18dd(7.5, 2.0)
8	—	—	—
11 _α	4.59dd(9.0, 3.5)	4.61dd(9.0, 3.5)	4.60dd(9.0, 3.5)
11 _β	—	—	—
12 _α	2.85dd(13.5, 9.0)	2.81dd(13.5, 9.0)	2.80dd(13.5, 9.0)
12 _β	2.07dd(13.5, 3.5)	2.06dd(13.5, 3.5)	2.23dd(13.5, 3.5)
15 _α	2.26d(13.5)	—	—
15 _β	2.55d(13.5)	4.76s	4.56s
16	—	—	—
17	2.25d(10.0)	2.45d(10.0)	2.25d(7.5)
18-H ₃	1.26s	1.30s	1.40s
19	1.02d(4.0) 2.00d(4.0)	1.06d(4.0) 2.02d(4.0)	1.02d(4.5) 1.96d(4.5)
20	2.19m	2.15m	2.79m

【0110】

※ ※ 【表6】

表 1 - 6

21-H ₃	0.92d(6.0)	0.92d(5.5)	1.13d(6.5)
22	2.42dd(18.5, 4.0) 2.52dd(18.5, 12.0)	2.41dd(18.5, 4.0) 2.49dd(18.5, 11.5)	3.43dd(18.0, 9.0) 3.86dd(18.0, 3.0)
23	—	—	—
24	4.50s	4.53s	4.46s
26	—	—	—
26-H ₃	—	—	1.63s
27	—	—	—
27-H ₃	—	—	1.50s
28-H ₃	1.60s	1.51s	1.28s
29-H ₃	1.41s	1.41s	1.38s
30-H ₃	1.16s	1.16s	1.15s
1'	4.88d(7.5)	4.88d(7.5)	4.85d(7.5)
2'	4.03t(7.5)	4.01t(7.5)	4.00t(7.5)
2'-OH	—	—	—
3'	4.15t(8.5)	4.14t(8.5)	4.13t(8.5)
4'	4.20ddd(11.0, 8.5, 5.0)	4.20ddd(11.0, 8.5, 5.0)	4.16ddd(10.0, 8.5, 5.0)
5'	3.73t(11.0)	3.72t(11.0)	3.71dd(11.0, 10.0)
	4.34dd(11.0, 5.0)	4.33dd(11.0, 5.0)	4.31dd(11.0, 5.0)
COCH ₃	—	—	—

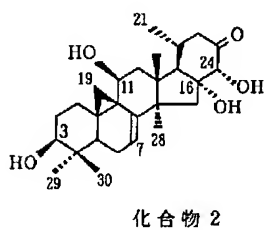
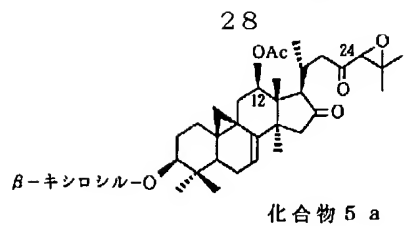
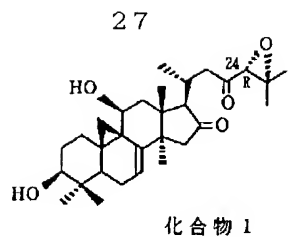
【0111】各化合物1～11の構造式を以下に示す。 20

【0112】

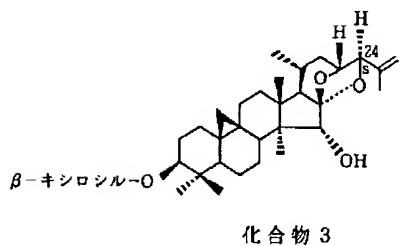
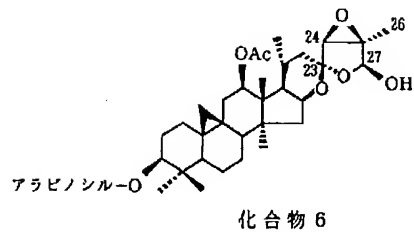
【化49】

(15)

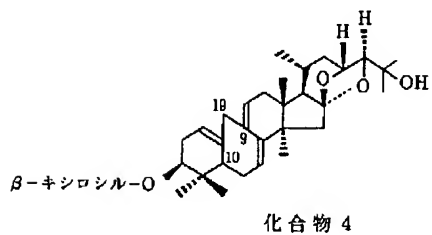
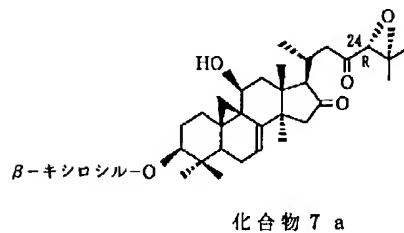
特開平9-30977



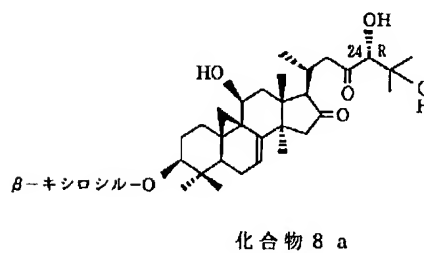
10



20

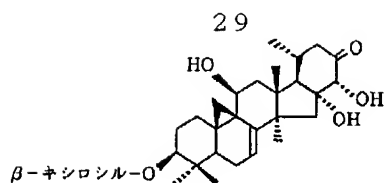


30

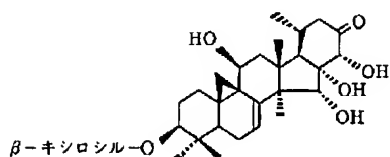


【0113】
【化50】

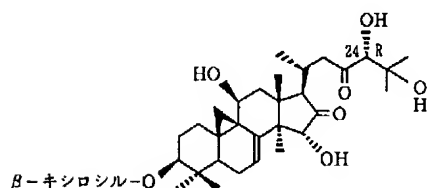
【0114】
【化51】



化合物 9



化合物 10



化合物 11

*【0116】試験例1

実施例1でメタノール抽出により得たメタノール抽出物(A)を、100ml中にHam's F-12粉末(白水製薬(株)製)1.06g、非飮化ウマ血清(HS、阪大微生物病研究会より入手)5ml、NaHCO₃ 0.22g、20mM CaCl₂ 5mlを含む培養液を用いて、440μg/mlおよび44μg/mlとなるように試験液を調製した。

【0117】2日齢のマウスに⁴⁵CaCl₂ 2μCiを皮下投与し、2日後にその頭頂骨を摘出単離し、37℃において5%CO₂を含む空気を通じて24時間前培養し、その培養液にPTHを最終濃度が2×10⁻⁹Mとなるように加えたのち、2種の濃度の前記試験液をそれぞれ1ml加えた。これを前培養と同条件でさらに72時間培養した。培養液中に放出された⁴⁵Caを測定した(測定値1)。この培養液を新しい培養液(1ml)に取り替え、前記と同条件でさらに72時間培養した。この培養液中の⁴⁵Caを前記と同様に測定した(測定値2)。さらに培養液から頭頂骨を取り出し、0.01MEDTA-酢酸(pH5.5)1mlを用い、4℃で72時間脱灰し、その脱灰液中の⁴⁵Caを測定した(測定値3)。これらの測定値を用いて、つぎの計算式で⁴⁵Caの放出量を%で算出した。

【0118】

【数1】

【0115】つぎに実施例1で得た升麻の抽出物の薬効を、in vitroでの試験例を挙げて説明する。*

$$^{45}\text{Caの放出量}(\%) = \frac{\text{測定値1} + \text{測定値2}}{\text{測定値1} + \text{測定値2} + \text{測定値3}} \times 100$$

【0119】結果を表2に示す。

30※【表7】

【0120】

※
表 2

⁴⁵Caの放出量(%)

添加物	⁴⁵ Ca放出量(%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液(440 μg/ml)	20.51 ± 1.81
PTH + 試験液(44 μg/ml)	50.61 ± 1.98

【0121】この結果より、実施例1で得たメタノール抽出物(A)は、PTHによる骨吸収を強く抑制することが明らかである。

【0122】試験例2

実施例1で得たヘキサン抽出物(B)を、440μg/mlおよび44μg/mlの濃度となるように試験例1★

★と同様にして2種の試験液を調製した。この試験液を用いて試験例1と同様の試験を行った。結果を表3に示す。

【0123】

【表8】

表 3

 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	39.69 ± 1.45
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	44.27 ± 0.47

【0124】この結果より、実施例1で得たヘキサノ抽出物(B)は、PTHによる骨吸収を強く抑制することが明らかである。

【0125】試験例3

実施例1で得た酢酸エチル抽出物(C)を、440 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および44 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように試験例*

*1と同様に2種の濃度の試験液を調製した。

【0126】この試験液を用いて試験例1と同様の試験を行った。結果を表4に示す。

【0127】

【表9】

表 4

 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	20.66 ± 1.36
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	49.66 ± 1.22

【0128】この結果より、実施例1で得た酢酸エチル抽出物(C)は、PTHによる骨吸収を強く抑制することが明らかである。

【0129】試験例4

実施例1で得たブタノール抽出物(D)を、440 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および44 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように試験例※

※1と同様に2種の濃度の試験液を調製した。この試験液を用いて試験例1と同様の試験を行った。結果を表5に示す。

【0130】

【表10】

表 5

 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	15.46 ± 4.53
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	52.95 ± 1.27

【0131】この結果より、実施例1で得たブタノール抽出物(D)は、PTHによる骨吸収を強く抑制することが明らかである。

【0132】実施例2

中国、黒龍江省において採取されたCimicifuga heracle★50

★ifolia KOMAROVの根茎を風乾した粉末(5.5 kg)をメタノール(12リットル)中に加え、3時間加熱還流して抽出した。この操作を3回繰り返して抽出液を合わせ、抽出液からメタノールを留去してメタノール抽出物(902 g)(E)を得た。この抽出物質

33

(E)に水1000mlを加えて懸濁液とし、ヘキサン1000mlを加えて抽出した。

【0133】これを3回繰り返してヘキサン抽出液を得、ヘキサンを留去してヘキサン抽出物(50g)

(F)を得た。さらにこの水懸濁液を同様な抽出方法によって酢酸エチル抽出物(250g)(G)、ブタノール抽出物(50g)(H)を得た。つぎにこれらの抽出物を実施例1と同様にして薄層クロマトグラフィーにより分画し、発色させた。図2に、メタノール、ヘキサン、酢酸エチルおよびブタノール抽出物の薄層クロマト*10

34

*グラフィーのパターンを示す。

【0134】前記酢酸エチル抽出物から実施例1と同様にして各テルペン化合物(12~22)を精製した。各化合物12~22の¹H-NMRデータを、それぞれ化合物12、13、17および18は表6-1および6-2、化合物14、15、16および19は表6-3および6-4、化合物20~22は表6-5および6-6に示す。

【0135】

【表11】

表 6 - 1

化合物番号 1H	12	17	18	13
1	1.37m 1.72m	1.36m 1.73m	1.58m 1.72m	1.57m 1.83td(13.5, 4.5)
2	1.68ddd(13.0, 4.0, 2.2) 1.75m	1.67m 1.75m	1.66m 1.75m	2.30ddd(13.5, 4.5, 2.0) 2.78td(13.5, 6.5)
3	3.33dd(11.4, 4.0)	3.32dd(11.2, 3.6)	3.33dd(11.0, 4.0)	—
5	1.25m	1.24m	1.24m	1.62m
6	1.63m 2.01ddd(13.0, 7.5, 2.2)	1.63m 1.99ddd(17.0, 7.5, 5.5)	1.63m 1.97m	1.74m
7	5.62dd(7.5, 2.2)	5.64dd(7.5, 2.1)	5.62dd(7.5, 2.2)	6.05dd(7.4, 2.0)
8	—	—	—	—
11	1.20m 2.13ddd(13.0, 7.0, 3.5)	1.19m 2.16ddd(13.0, 10.0, 4.0)	1.15m 2.15m	1.38m 2.09m
12	1.70m 1.77ddd(13.0, 8.0, 3.5)	1.69m 1.79m	1.67m 1.79m	1.70m 1.78m
15	4.04d(8.4)	4.12d(7.1)	4.12d(8.4)	4.05s
15-OH	2.78d(8.4)	2.62d(7.1)	2.73d(8.4)	—
16-OH	—	—	—	—
17	1.30d(6.6)	1.38d(6.7)	1.37m	1.74d(6.8)
19	0.55d(4.0) 1.09d(4.0)	0.54d(4.3) 1.11m	0.54d(4.0) 1.07d(4.0)	0.71d(4.0) 1.22d(4.0)
20	1.60m	1.67m	1.62m	1.75m
22	1.96ddd(13.0, 6.6, 2.2) 2.15ddd(13.0, 10.0, 2.2)	0.97m 2.33ddd(13.0, 10.0, 3.0)	1.01m 2.32ddd(13.0, 6.5, 2.5)	1.98ddd(13.0, 6.0, 2.5) 2.65m

【0136】

※ ※【表12】

表 6 - 2

23	4.45ddd(10.0, 4.2, 2.2)	4.48dd(10.0, 1.8)	4.39brd(10.0)	4.62ddd(9.5, 4.2, 2.5)
24	3.57d(4.2)	3.46d(0.5)	3.92s	3.73d(4.2)
18c)	1.03s	1.03s	1.03s	1.19s
21c)	0.90d(6.6)	0.91d(6.7)	0.90d(7.0)	0.98d(5.5)
26c)	1.33s	1.20s	1.48s	1.43s
27c)	1.22s	1.20s	1.42s	1.29s
28c)	1.06s	1.09s	1.06s	1.26s
29c)	1.01s	1.01s	1.01s	1.07s
30c)	0.85s	0.86s	0.85s	1.11s
1'	—	—	—	—
2'	—	—	—	—
3'	—	—	—	—
3'-OH	—	—	—	—
4'	—	—	—	—
5'	—	—	—	—
COCH ₃	—	—	1.99s	—
COCH ₃	—	—	—	—
IR(cm ⁻¹)	3450, 1620	3425, 1620, 1260	—	3470, 1720
MS(m/z)	486, 468, 453	486, 468, 453	528, 510, 468, 435, 409	484, 469, 466
旋光度	+6.36° (CHCl ₃)	—	—	-12.4° (CHCl ₃)
mp(°C)	222~223	198~199	205~206	225~228
分子式 (high resolution EI-MS)	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	C ₃₀ H ₄₄ O ₅
形状・色調	無色針晶	無色粉末	無色粉末	無色針狀結晶

【0137】

* * 【表13】
表 6 - 3

化合物番号 1H	14	15	16	19
1	1.35m 1.69m	1.35ddd(12.5, 4.1, 3.0) 1.63m	1.47m 1.68m	1.34m 1.69m
2	1.75m 1.93m	1.95m 2.29ddd(12.5, 4.1, 3.0)	1.96m 2.31ddd(12.5, 4.3, 3.0)	1.95m 2.29ddd(12.0, 4.0, 3.0)
3	3.20dd(11.4, 4.0)	3.45dd(11.4, 4.1)	3.46dd(11.6, 4.3)	3.44dd(11.6, 4.0)
5	1.25m	1.28m	1.30m	1.24m
6	1.65m 1.79m	1.59m 1.88m	1.60m 1.91m	1.61m 1.88m
7	5.60dd(7.5, 2.2)	6.05dd(7.4, 1.5)	6.04dd(7.4, 2.0)	6.06dd(7.5, 1.5)
8	—	—	—	—
11	1.20m 2.15m	1.13m 2.12ddd(13.0, 8.0, 2.8)	1.12m 2.12ddd(13.0, 9.0, 3.0)	1.14m 2.14ddd(12.5, 9.0, 4.0)
12	1.71m 1.77m	1.67m —	1.67m 1.71m	1.66m 1.77m
15	4.03d(7.9)	4.49d(7.5)	4.48d(7.5)	4.26d(7.5)
15-OH	2.76d(7.9)	4.58d(7.5)	4.52d(7.5)	4.63d(7.5)
16-OH	—	—	—	8.47s
17	1.32d(6.6)	1.73m	1.73m	1.49m
19	0.55d(4.9) 1.08d(4.9)	0.51d(4.0) 1.06d(4.0)	0.51d(4.0) 1.06d(4.0)	0.50d(4.0) 1.05d(4.0)
20	1.60m	1.72m	1.70m	1.74m
22	1.95m 2.13m	1.95m 2.64ddd(13.0, 8.7, 2.1)	1.96m 2.61ddd(13.0, 9.7, 2.0)	1.55m 1.91m

【0138】

* * 【表14】

表 6 - 4

23	4.44ddd(10.0, 4.0, 2.2)	4.60ddd(9.7, 4.1, 2.1)	4.60ddd(9.7, 4.1, 2.0)	4.18t(8.8)
24	3.57d(4.0)	3.72d(4.1)	3.71d(4.1)	4.82d(2.0)
18c)	1.02s	1.18s	1.16s	1.18s
21c)	0.89d(6.6)	0.98d(5.8)	0.98d(5.5)	0.96d(6.7)
26c)	1.33s	1.42s	1.41s	1.69s
27c)	1.22s	1.28s	1.31s	1.49s
28c)	1.05s	1.26s	1.27s	1.34s
29c)	0.97s	1.28s	1.28s	1.29s
30c)	0.85s	1.00s	1.05s	1.04s
1'	4.60d(5.9)	4.81d(7.3)	4.79d(7.3)	4.76d(7.3)
2'	4.85dd(7.0, 5.9)	4.01dd(9.2, 7.3)	3.95dd(8.5, 7.3)	3.94dd(8.6, 7.3)
3'	3.78m	5.68t(9.2)	4.08t(8.5)	4.06t(8.6)
3'-OH	2.91s	—	—	—
4'	4.82td(7.0, 4.0)	4.20td(9.2, 5.2)	4.17td(8.5, 5.2)	4.15td(8.6, 5.2)
5'	3.39dd(12.0, 7.0)	3.96t(10.7)	3.67t(10.1)	3.65t(10.1)
	4.15dd(12.0, 4.0)	4.31dd(10.7, 5.2)	4.31dd(10.1, 5.2)	4.29dd(10.1, 5.2)
COCH ₃	2.11s	1.98s	—	2.02s
COCH ₃	2.13s	—	—	—
IR(cm ⁻¹)	3550, 1740, 1635	3420, 1725, 840	3420, 1630	3346, 1740, 1240
MS(m/z)	703	661	619	679
旋光度	-15.5° (CHCl ₃)	-13.2° (CHCl ₃ :MeOH=2:3)	-9.6° (CHCl ₃ :MeOH=2:3)	-27.4° (CHCl ₃ :MeOH=2:3)
mp(°C)	206~207.5	243~244	215~216	208~208.5
分子式 (high resolution E1-MS法)	C ₃₉ H ₅₈ O ₁₁	C ₃₇ H ₅₆ O ₁₀	C ₃₅ H ₅₄ O ₉	C ₃₇ H ₅₈ O ₁₁
形状・色調	無色粉末	無色粉末	無色粉末	無色粉末

【0139】

* * 【表15】
表 6 - 5

化合物番号 1H	20	21	22
1	2.45m	2.30m	1.96m
2	1.59m	2.49m	1.22m
	1.70m	1.51m	1.58m
3	3.73d(5.5)	3.73d(5.5)	3.29dd(11.6, 4.6)
5	1.20m	1.18d(12.0)	1.30m
6	1.73m	1.72m	1.32m
	1.92m	1.93ddd(12.0, 7.5, 4.5)	1.61m
7	1.41td(12.0, 4.5)	1.38td(12.0, 4.5)	0.80m
	1.62m	1.58m	1.76m
8	—	—	1.63m
11	2.10m	2.09m	1.04m
	1.70m	—	1.69m
12	1.54m	1.47m	1.67m
	1.86m	1.85m	1.79m
15	4.00d(8.1)	3.89d(6.0)	3.19d(8.4)
15-OH	2.75d(8.1)	4.09d(6.0)	2.64d(8.4)
16-OH	—	4.92s	—
17	1.80d(11.0)	1.58m	1.38m
19	1.68d(13.4)	1.65d(13.4)	0.37d(4.3)
	3.14d(13.4)	3.10d(13.4)	0.63d(4.3)
20	1.61m	1.58m	1.62m
22	1.96m	1.56m	1.00m
	2.15ddd(13.0, 9.5, 2.5)	1.70m	2.34ddd(13.0, 7.5, 2.5)

【0140】

* * 【表16】

表 6 - 6

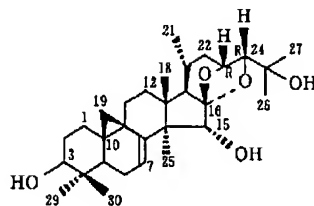
23	4.45ddd(9.5, 4.2, 2.5)	4.07m	4.38brd(9.2)
24	3.57d(4.2)	5.10d(9.5)	3.88s
18c)	0.88s	0.81s	1.09s
21c)	0.91d(6.6)	1.00d(6.4)	0.88d(7.2)
26c)	1.31s	1.29s	1.47s
27c)	1.21s	1.13s	1.41s
28c)	0.95s	0.88s	0.95s
29c)	1.01s	1.02s	1.00s
30c)	0.92s	0.88s	0.81s
1'	—	—	—
2'	—	—	—
3'	—	—	—
3'-OH	—	—	—
4'	—	—	—
5'	—	—	—
COCH ₃	—	2.05s	1.99s
COCH ₃	—	—	—
IR (cm ⁻¹)	3510, 1380, 1240	3152, 1725	—
MS (m/z)	486, 468, 453, 435, 389	546, 528, 311	530, 512, 452
旋光度	+59.23 (CHCl ₃)	+33.8° (CHCl ₃)	—
mp (°C)	230~231	238~239	201~202.5
分子式 (high resolution EI-MS16)	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	C ₃₂ H ₅₀ O ₇	C ₃₂ H ₅₀ O ₆
形状・色調	無色針晶	無色針晶	無色粉末

【0141】各化合物12~22の構造式を以下に示す。

【0142】

【化52】

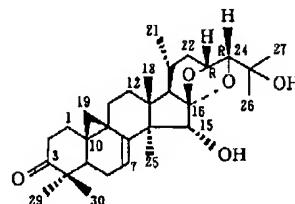
*



化合物12

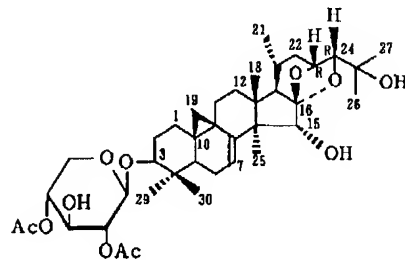
*

30



化合物13

40



化合物14

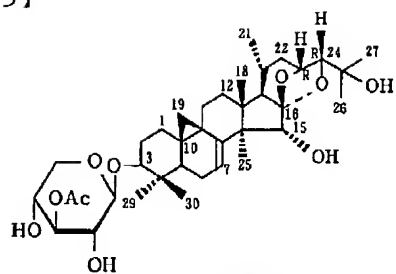
50 【0143】

(22)

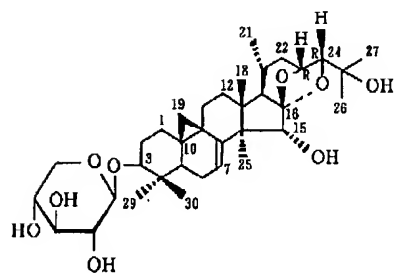
特開平9-30977

【化53】

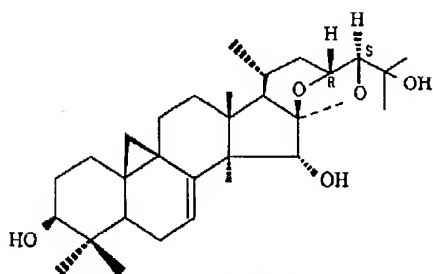
41



化合物 15



化合物 16

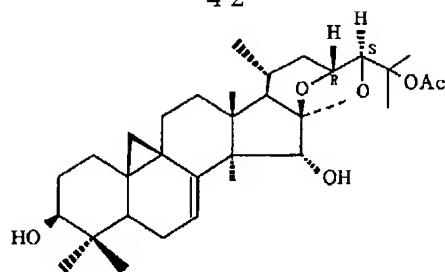


化合物 17

【0144】

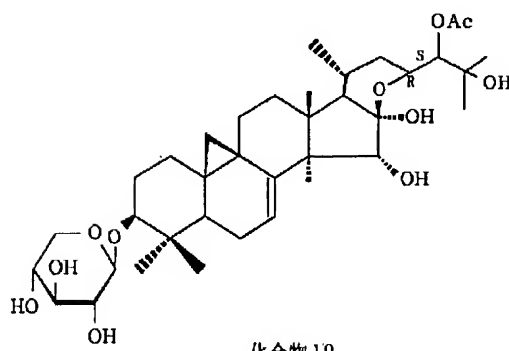
【化54】

42



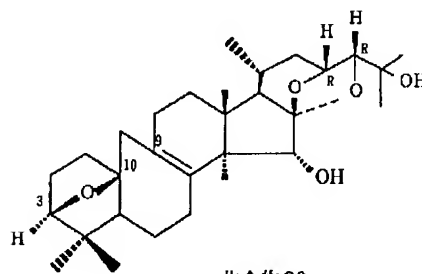
化合物 18

10



化合物 19

20

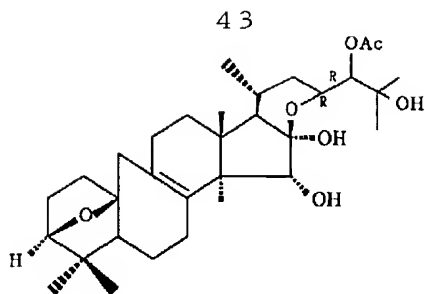


化合物 20

30

【0145】

【化55】



化合物 21

44

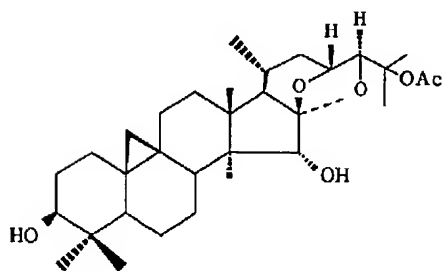
*【0146】試験例5

実施例2で得たメタノール抽出物(E)を、 $440\mu\text{g}/\text{ml}$ および $44\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように試験例1と同様にして2種の濃度の試験液を調製した。この試験液を用いて試験例1と同じ試験を行った。結果を表7に示す。

【0147】

【表17】

10



化合物 22

20

*
表 7 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 ($440\mu\text{g}/\text{ml}$)	16.60 ± 0.77
PTH + 試験液 ($44\mu\text{g}/\text{ml}$)	57.98 ± 2.65

【0148】この結果より、実施例2で得たメタノール抽出物(E)は、PTHによる骨吸収を強く抑制することが明らかである。

【0149】試験例6

実施例2で得たヘキサン抽出物(F)を、 $440\mu\text{g}/\text{ml}$ および $44\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように試験例1※

※と同様にして2種の濃度の試験液を調製した。この試験液を用いて試験例1と同じ試験を行った。結果を表8に示す。

【0150】

【表18】

表 8

 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	40.59 ± 1.12
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	45.77 ± 1.50

【0151】この結果より、実施例2で得たヘキサシ抽出物 (F) は、PTHによる骨吸収を強く抑制することが明らかである。

【0152】試験例7

実施例2で得た酢酸エチル抽出物 (G) を、440 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および44 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように試験例*

*1と同様にして2種の試験液を調製した。この試験液を用いて試験例1と同じ試験を行った。結果を表9に示す。

【0153】

【表19】

表 9

 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	23.02 ± 1.46
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	45.35 ± 2.23

【0154】この結果より、実施例2で得た酢酸エチル抽出物 (G) は、PTHによる骨吸収を強く抑制することが明らかである。

【0155】試験例8

実施例2で得たブタノール抽出物 (H) を、440 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および44 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように試験例※

※1と同様にして2種の試験液を調製した。この試験液を用いて試験例1と同じ試験を行った。結果を表10に示す。

【0156】

【表20】

表 10

 ^{45}Ca の放出量 (%)

添加物	^{45}Ca 放出量 (%)
無添加	27.53 ± 1.45
PTH	59.30 ± 2.60
PTH + 試験液 (440 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	17.76 ± 0.79
PTH + 試験液 (44 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	55.69 ± 7.22

【0157】この結果より、実施例2で得たブタノール抽出物 (H) は、PTHによる骨吸収を強く抑制することが明らかである。

【0158】つぎにCimicifuga foetida L.からの酢酸エチル抽出物 (C) とCimicifuga heracleifoliaからの★50

★酢酸エチル抽出物 (G) の卵巣摘出動物を用いた生物活性の試験例を示す。

【0159】試験例9

8ヶ月齢の経産ウィスターラットを卵巣抽出し、卵巣摘出群 (グループ1)、抽出物 (C) 投与群 (グループ

47

48

2)、抽出物(G)投与群(グループ3)に分けた。また疑似手術群(グループ4)を1群作成した。

【0160】グループ1と4には蒸留水、グループ2と3には抽出物(C)と(G)をそれぞれ100mg/kg/day、6週間投与した。投与終了後ラットを麻酔*

*して、二重エネルギーX線吸収法(DXA)により、第2から第4腰椎までの平均骨密度を測定した。結果を表11に示す。

【0161】

【表21】

表 11

グループ	1	2	3	4
平均骨密度 (g/cm ²)	0.1464 ± 0.0037 (7)	0.1602 ± 0.0029 (6) *	0.1612 ± 0.0031 (6) *	0.1752 ± 0.0062 (5) **

グループ1: 卵巣摘出群

n = 7

グループ2: 抽出物(C) (100mg/kg) 投与群

n = 6

グループ3: 抽出物(G) (100mg/kg) 投与群

n = 6

グループ4: 疑似手術群

n = 5

グループ1との差異に関する有意差 *p < 0.02, **p < 0.01

【0162】この結果より、*Cimicifuga foetida* L.からの抽出物(C)および*Cimicifuga heracleifolia*からの抽出物(G)は明らかに骨密度の減少を抑制することが確認され、骨粗鬆症治療薬としての有用性が示された。

※【0163】実施例3

本発明の化合物の製剤例を示す。下記の処方にしたがって1錠あたり、実施例1で得た酢酸エチルからの抽出物(C) 50mgを含有する錠剤を調製した。

※20 【0164】

成分	mg
抽出物(C)	50
結晶セルロース	50
カルボキシメチルセルロースカルシウム	10
ラウリル硫酸ナトリウム	1
メチルセルロース	3
ステアリン酸カルシウム	4

実施例4

★(C) 50mgを含有する200mgの混合成分を、カプセルに充填してカプセル剤を調製した。

本発明の化合物の製剤例を示す。下記の処方にしたがって1錠あたり、実施例1で得た酢酸エチルからの抽出物★30

【0165】

成分	mg
抽出物(C)	50
ラクトース	50
コーンスターチ	40
結晶セルロース	50
ステアリン酸カルシウム	10

試験例10

☆および19の*invitro*薬効の試験を試験例1と同様に行った。各化合物を200μMおよび20μMの濃度を用いて添加した。結果を表12に示す。

Cimicifuga foetida L.からの酢酸エチル抽出物の中から単離された化合物2、3、4、6、7、8、9および

【0166】

11および*Cimicifuga heracleifolia* KOMAROV 40から単離された化合物12、13、14、15、16お☆

【表22】

表 12

化合物	^{45}Ca 放出量 (%)			
	添加量		PTH ¹⁾	ブランク ²⁾
	200 μM ³⁾	20 μM ³⁾		
3	24.50 \pm 7.32****	37.27 \pm 1.72***	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
6	17.13 \pm 0.36****	62.78 \pm 1.24	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
4	29.22 \pm 1.46****	51.18 \pm 3.15	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
7	22.69 \pm 0.88****	52.98 \pm 2.93	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
8	47.24 \pm 1.62*	54.71 \pm 3.18	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
11	44.68 \pm 3.18*	47.38 \pm 4.75	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
2	53.21 \pm 1.26	60.08 \pm 1.39	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
9	41.99 \pm 3.15***	58.47 \pm 3.34	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
12	52.07 \pm 3.14	65.64 \pm 2.78	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
13	52.68 \pm 2.60	53.70 \pm 4.25	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
14	42.93 \pm 1.55***	64.58 \pm 6.65	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
15	32.20 \pm 4.68****	51.14 \pm 3.28	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
16	25.82 \pm 0.88****	36.09 \pm 2.49****	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02
19	35.99 \pm 4.68***	40.28 \pm 3.28***	59.54 \pm 3.92	30.19 \pm 2.02

1) PTH: PTH ($2 \times 10^{-9}\text{M}$) のみ培養 (n = 14)

2) ブランク: 化合物のみ培養 (n = 14)

3) 化合物の評価は PTH ($2 \times 10^{-9}\text{M}$) 存在下で実施 (n = 6~7)

4) PTH のみの数値との有意差 *p < 0.05, ***p < 0.01, ****p < 0.001

【0167】これらの結果から、これらの化合物は単独でもPTHによる骨吸収を抑制することが明らかである。

【0168】

【発明の効果】本発明により、升麻抽出物を有効成分とする骨疾患治療剤が得られる。

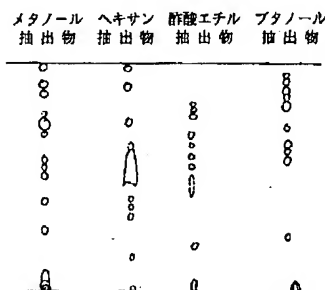
【0169】本発明の骨疾患治療剤により、骨粗鬆症、関節炎、関節症および高カルシウム血しょうなどの治療を有効に行なうことが可能である。

*【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施例1(a)においてえられた、メタノール、n-ヘキサン、酢酸エチルおよびn-ブタノール抽出物の画分パターンを示すクロマトグラムである。

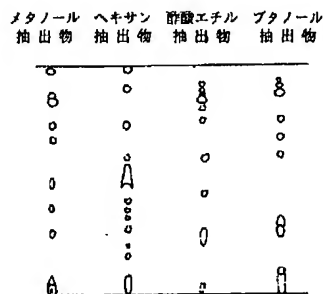
【図2】本発明の実施例2においてえられた、メタノール、n-ヘキサン、酢酸エチルおよびn-ブタノール抽出物の画分パターンを示すクロマトグラムである。

【図1】



展開溶媒: $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (7:3, v/v)、ただしヘキサン抽出物は $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (9:1, v/v) で展開
 染色試薬: 10% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 硫酸水溶液
 展開距離: 6 cm

【図2】



展開溶媒: $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (7:3, v/v)、ただしヘキサン抽出物は $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (9:1, v/v) で展開
 染色試薬: 10% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 硫酸水溶液
 展開距離: 8 cm

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 J 71/00			C 0 7 J 71/00	
(72)発明者 門田 重利			(72)発明者 宮原 龍郎	
富山市五福末広町2556-4-2-402			富山市山室203-1	